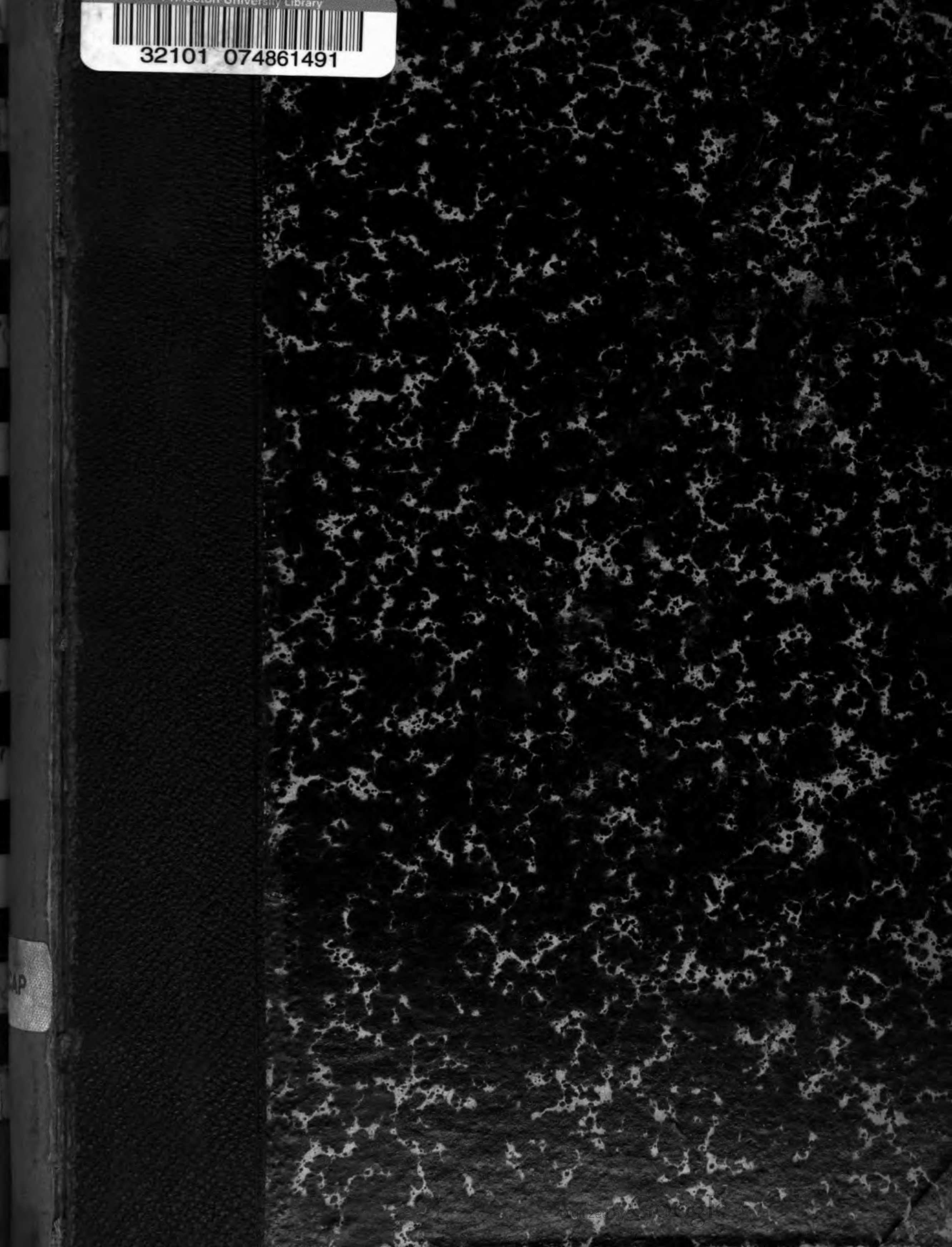
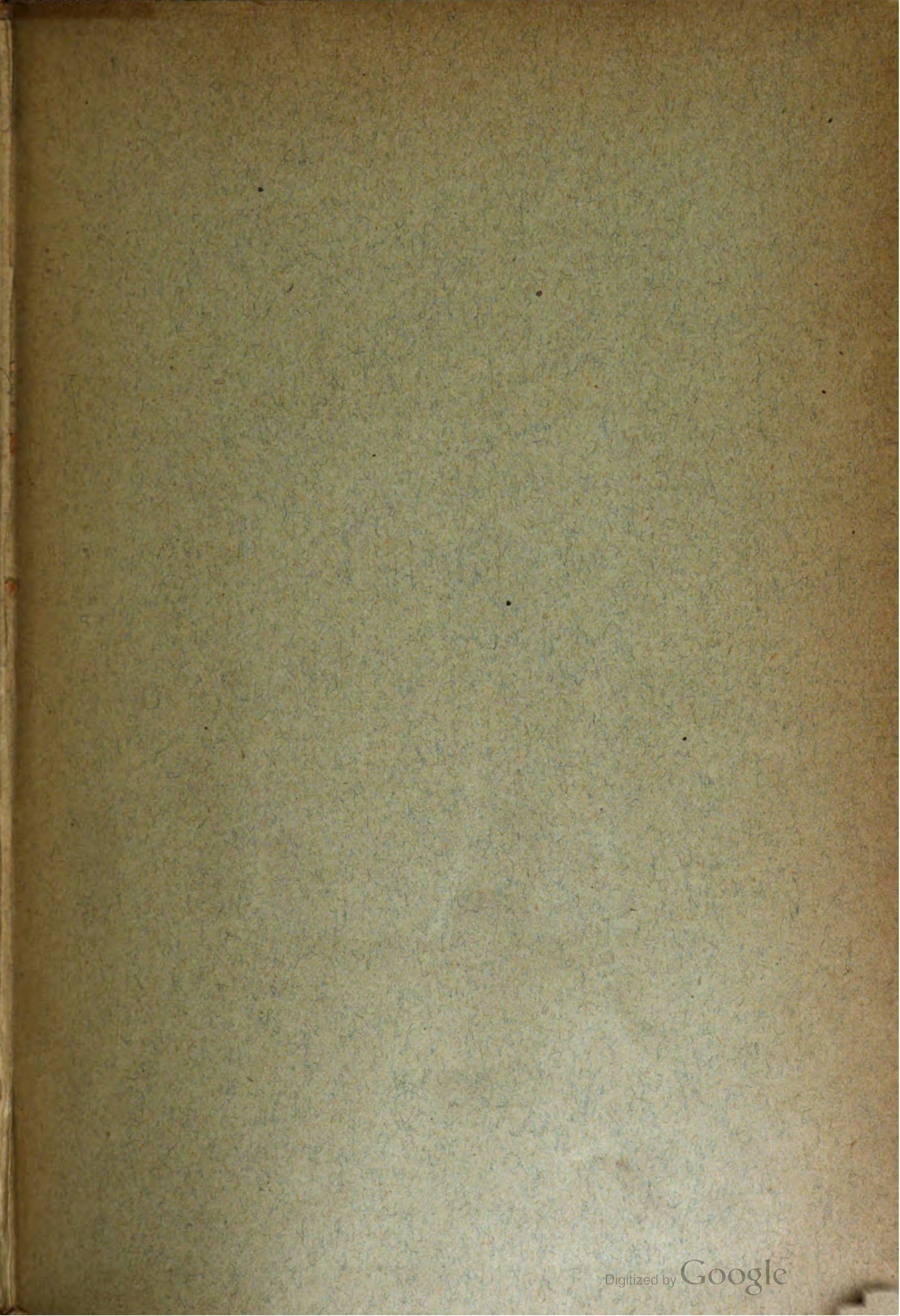






Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin Hamburg.

Neunzehnter Band.

Mit 18 Tafeln und 60 Textfiguren.



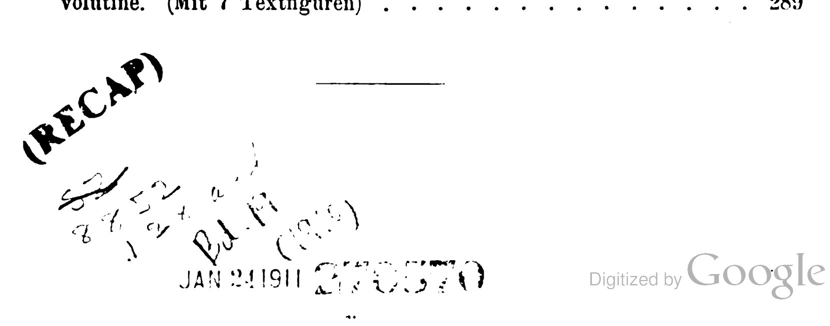
JENA.
Verlag von Gustav Fischer.
1910.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites Heft.

Drittes Heft.



(Aus dem Zoologischen Institut zu Heidelberg.)

Über die Anlage der Sporocyste (Pansporoblast) bei *Sphaeromyxa sabrazesi* Laveran et Mesnil.

Von
Dr. Olaw Schröder.

(Hierzu 10 Textfiguren.)

Nicht lange nach Erscheinen meiner „Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien“ (Arch. f. Protistenk., Bd. IX, 1907) beschrieb G. Keysselitz (1908) an gleicher Stelle (Bd. XI) ausführlich die Entwicklung von *Myxobolus pfeifferi* Thél. und kurz darauf S. Awerinzew (1908, Bd. XIV) die Sporenbildung von *Ceratomyxa drepanopsettae* Awerinzew. Diese drei Abhandlungen gestatteten nunmehr einen Vergleich, wobei sich ergab, daß im Verlauf der Sporenbildung von *Sphaeromyxa* und *Myxobolus* eine weitgehende Übereinstimmung zu bestehen schien. Andererseits wichen besonders die Angaben über die erste Anlage der Sporocysten voneinander ab. Hierdurch wurde ich veranlaßt, diese Stadien von *Sphaeromyxa* einer erneuten Untersuchung zu unterziehen, um so mehr als inzwischen bereits Hartmann (1909, Arch. f. Protistenk., Bd. XIV) die Vermutung ausgesprochen hatte, es dürfte bei der sonstigen Übereinstimmung in der Sporenbildung von *Sphaeromyxa* und *Myxobolus*, sich auch die Anlage der Sporocyste in gleicher Weise vollziehen.

Bei der Nachuntersuchung bediente ich mich in erster Linie der Präparate, die mir schon bei meiner ersterwähnten Arbeit vorgelegen hatten; außerdem stellte ich jedoch von demselben Material neue Totalpräparate in der früher angegebenen Weise her. Ver-

gleichend untersuchte ich auch Präparate von *Sphaeromyxa balbianii* THÉL. aus der Gallenblase von *Cepola rubescens* LINN.[1])

Ich hatte die erste Anlage der Sporocyste (Pansporoblast) so geschildert, daß in die amöbenähnliche, großkernige Propagationszelle ein kleiner kompakter Kern eindringe und daß beide Kerne sich fortgesetzt mitotisch vermehrten, bis die Sporocyste im ganzen 14 Kerne enthält. KEYSSELITZ schilderte die Sporocystenbildung in der Weise, daß 2 Propagationszellen sich aneinanderlegen, nachdem sie je eine kleine Zelle abgeschnürt haben. Diese beiden kleinen Zellen verschmelzen hierauf und bilden die Sporocystenhülle (ihre Kerne sind die sog. Restkerne), innerhalb welcher die beiden anderen Zellen, die Gametoplasten, sich unter mitotischer Teilung ihrer Kerne bis auf 12 vermehren (so daß also samt den beiden Kernen der Sporocystenhülle 14 Kerne in der Sporocyste vorhanden sind).

Diese Deutung der ersten Vorgänge bei der Sporocystenbildung halte auch ich nunmehr für wahrscheinlich. Bei *Sphaeromyxa* sind diese Stadien aus verschiedenen Gründen nicht leicht richtig zu deuten. So schnüren z. B. die Propagationszellen nicht wie bei *Myxobolus* je eine kleine Zelle (eine der beiden Hüllzellen der späteren Sporocyste) ab, sondern es teilen sich nur ihre Kerne, und die entstehenden 2 neuen Kerne bleiben im gemeinsamen Protoplasma liegen. Ferner nehmen bei der Aneinanderlagerung zweier derartiger zweikerniger Stadien (die den Gametoplasten und Sporocystenhüllzellen bei *Myxobolus* entsprechen) zur Sporocystenbildung die kleinen, kompakten Kerne (= Restkerne früherer Autoren) der späteren Sporocystenhülle nicht die typische Lage ein, wie die beiden kleinen Hüllzellen bei *Myxobolus* (siehe KEYSSELITZ 1908, Taf. 13, Fig. 45 und folgende). Die Propagationszellen liegen im Plasma der *Sphaeromyxa* oft so dicht nebeneinander, daß eine paarweise Annäherung nicht auffällt. Ferner erhält man bei Betrachtung von Exemplaren, welche hauptsächlich frühe Stadien, nicht aber schon ausgebildete Sporocysten in größerer Anzahl enthalten, den Eindruck, als ob, wie von mir geschildert wurde, die Propagationszellen um Ansammlungen kleiner kompakter Kerne lagern und von letzteren einige hinübergewandert wären (s. meine Abhandlung 1907, Taf. XIV, Fig. 6).

Schließlich glaubte ich aus den von mir auf Taf. 14, Fig. 8—16 abgebildeten Stadien auf die von mir geschilderte Entstehung der

---

[1]) Herrn Privatdozent Dr. R. GOLDSCHMIDT, der mir das gut konservierte Material zur Verfügung gestellt hatte, spreche ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.



Sporocyste durch eine Vermehrung der Kerne der zweikernigen Stadien schließen zu müssen. Diese Stadien (Fig. 8—16) sind, wenn die von KEYSSELITZ beschriebene und jetzt auch von mir für wahrscheinlich angenommene Art der ersten Anlage der Sporocyste sich als richtig erweist, vorerst noch nicht zu deuten. KEYSSELITZ selbst hat wohl ein gleiches Stadium auf seiner Fig. 44 (Taf. XIII) abgebildet und ist darüber zu keiner sicheren Deutung gelangt. Er schreibt darüber (S. 258): „Entsteht nun die Sporocyste stets in der angegebenen Weise? Ich möchte auf das in Fig. 44 abgebildete Stadium verweisen. Der Gametoplast teilt sich. Ob eine Weiterentwicklung erfolgt, kann ich trotz verschiedenfachen Nachwuchses nicht entscheiden.“ Vermutungsweise meint KEYSSELITZ, daß derartige Stadien später degenerieren. Ich selbst vermag, wie bereits gesagt, zurzeit auch keine befriedigende Erklärung zu geben.

Die Vorgänge bei der Anlage der Sporocysten von *Sphaeromyxa*, wie ich sie nunmehr in gleicher Weise wie KEYSSELITZ bei *Myxobolus* deuten zu müssen glaube, sind folgende: Im Myxosporid bilden sich die amöbenähnlichen Propagationszellen (1907, Taf. XIV, Fig. 5 b). Ihr Kern teilt sich mitotisch (Fig. 5 c und nebenstehende Textfig. 1—3) und das Produkt seiner Teilung ist ein größerer, ver-

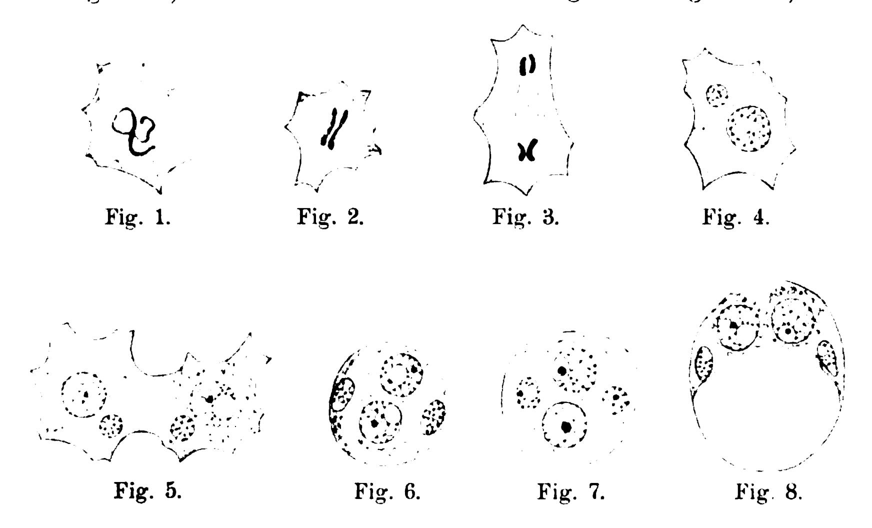


Fig. 1. Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 5. Fig. 6. Fig. 7. Fig. 8.

hältnismäßig lockerer und ein kleinerer, kompakter Kern; ersterer ist der eigentliche Gametoplastenkern, letzterer einer der beiden sog. Restkerne oder besser Kerne der Sporocystenhülle (Taf. XIV, Fig. 6 und nebenstehende Textfig. 4). Zwei derartige zweikernige Zellen verbinden sich nun miteinander und zwar scheint bei *Sphaero-*

myxa eine vollständige Verschmelzung ihres Plasmas einzutreten (Textfig. 5). Die so entstehende Sporocyste rundet sich ab; die kleinen kompakten Kerne treten in Beziehung zur Bildung der Sporocystenhülle und vermehren sich nicht weiter. Dabei ist ihre Lage zu den anderen Kernen sehr wechselnd, im Gegensatz zu den gleichen Stadien bei *Myxobolus*. Die beiden in den Textfig. 6 u. 7 dargestellten Beispiele sind aus einer sehr großen Anzahl wegen der Ähnlichkeit mit den von Keysselitz abgebildeten gleichen Stadien herausgesucht; häufiger erscheint ihre Lagerung, wie sie in Fig. 8 und 1907, auf Taf. XIV, Fig. 19 dargestellt wurde.

Von der weiteren Entwicklung will ich nur noch anführen, daß die 4 eigentlichen Gametenkerne (= Amöboidkeimkerne) (wie bereits von Hartmann 1909 dargestellt) wie bei *Myxobolus* Reduktionskerne ausscheiden (1907, Taf. XIV, Fig. 30—32 *x*), was ich früher nicht richtig erkannte, indem ich die beiden Kerne der Sporocystenhülle (= Restkerne) in Beziehung zu den 4 Gametenkernen (= Amöboidkernen), die 4 Reduktionskerne aber in Beziehung zu den übrigen Kernen der Sporocyste brachte.

Es scheint somit die Bildung und Entwicklung der Sporocysten von *Sphaeromyxa* in ganz gleicher Weise wie bei *Myxobolus* zu verlaufen. Ein Unterschied liegt nur darin, daß, wie schon Hartmann ausführt, bei *Myxobolus* gesonderte Zellen in der Sporocyste vorhanden sind, während bei *Sphaeromyxa* die Kerne in einer gemeinsamen Plasmamasse zu liegen scheinen. (Allerdings führte ich S. 366 aus, daß zu den einzelnen Kernen je eine gesonderte, vielleicht nur etwas dichtere Plasmazone gehört. Da auch bei *Myxobolus* die Trennung in gesonderte Zellen nur am lebenden Myxosporid zu erkennen ist, so bedürfte dieser Punkt noch einer genauen Feststellung.)



Fig. 9. Fig. 10.

Noch kurz möchte ich auf eine allerdings noch unsichere Beobachtung hinweisen, die ich erst bei der erneuten Durchsicht meiner Präparate machte. Ich fand nämlich in einigen Fällen Stadien, wie

ich sie auf Fig. 9 u. 10 dargestellt habe, aus denen man schließen könnte, daß die kleinen kompakten Kerne (der Sporocystenhülle) sich vor der Vereinigung zweier Gametoplasten zu einer Sporocyste erst noch teilen. Die eine Teilhälfte wird ausgestoßen und diese ausgestoßenen Kerne bilden vielleicht die von mir (1907) beschriebenen Kernansammlungen. Da ich selbst kaum Gelegenheit haben werde, diese Beobachtungen nachzuprüfen, so begnüge ich mich damit, kurz auf sie hinzudeuten.

Heidelberg, im Oktober 1909.

A propos de la structure des Bacilles endosporés.

Reponse à M. E. Mencl.

Par

A. Guilliermond.

Notre but est simplement de répondre à un article récent (1) de M. MENCL, dans lequel cet auteur critique d'une manière un peu vive l'interprétation que nous avons donnée de la structure des Bactéries.

On se souvient que dans un article (2) paru, il y a un an environ dans ce journal, nous avons exposé les résultats de nos recherches sur la structure d'un certain nombre de Bacilles endosporés (*B. mycoides*, *B. megatherium*, *B. alvei*, *B. asterosporus*, *B. limosus*, etc.). Il est nécessaire de les rappeler ici avant de discuter l'opinion de M. MENCL.

Nous avons montré par des observations faites à l'aide d'une technique très variée que, dans aucun cas, on ne peut constater, dans ces différentes espèces, la présence d'un noyau analogue à celui décrit dans certaines Bactéries par VEJDOVSKÝ, MENCL, RAYMAN et KRUIS. Par contre, nous avons observé une structure alvéolaire semblable à celles qu'avaient figuré BÜTSCHLI et SCHAUDINN, remplies de granulations colorables disposées dans le nœud de la trame cytoplasmique. Lors de la sporulation, l'ébauche de la spore apparaît au pôle de la cellule sous forme d'un gros granule fortement colorable qui ressemble tout à fait à un noyau et qui paraît naître par la condensation d'une partie des granulations dispersées dans le cytoplasme. Ce granule grandit et peu à peu s'entoure

d'une membrane très épaisse qui finit par empêcher la coloration de la spore adulte.

En présence de ces faits, nous avons conclu à l'absence du noyau dans les Bacilles endosporés et nous avons formulé l'hypothèse que les granulations colorables si abondamment contenues dans le cytoplasme, qui d'ailleurs offrent vis-à-vis des colorants tous les caractères de la chromatine, représentent une sorte de noyau diffus ou de système chromidial. La spore résulterait de la condensation d'une partie de ces granules et serait constituée presque uniquement de chromatine.

Nous avons cherché, en outre, à concilier nos résultats avec ceux obtenus par les auteurs qui nous avaient précédés dans cette étude. On sait que ces résultats sont des plus contradictoires.

Tout d'abord, nous avons distingué les résultats obtenus dans les Bacilles endosporés de ceux obtenus dans d'autres Bactéries, car il est possible de considérer les Bactéries comme un groupement provisoire constitué d'éléments hétérogènes et on peut s'attendre à ne pas remontrer la même structure dans les différents genres de Bactériacées. C'est ainsi que les Sulfobactéries, où Bütschli a constaté la présence d'un corps central, paraissent devoir être rangés parmi les Cyanophycées. D'autre part, les Cladothrix, qui par certains caractères s'écartent notablement des Bacilles endosporés, sont peut être aussi à rattacher aux Algues.

Quant aux Bacilles endosporés, leur affinité n'est pas encore bien établie. Ils diffèrent des Cyanophycées par leurs spores internes, mais s'en rapprochent par leur organisation nucléaire primitive. On a pu indifféremment les rapprocher des Flagellés, des Champignons et des Cyanophycées.[1]) En tous cas, ils se distinguent des Cyanophycées

[1]) Arthur Meyer (3), se fondant sur la présence d'un noyau dans les Bactéries, considère ces organismes comme appartenant au groupe des Ascomycètes. Les travaux de Schaudinn ont semblé aboutir à une certaine confirmation de cette opinion et à un rapprochement entre Bacilles endosporés et les Levûres. Bien qu'il soit arrivé à conclure à l'existence d'un noyau diffus dans les Bacilles qu'il a examiné (*B. Bütschlii* et *B. sporonema*), Schaudinn a observé l'existence d'un rudiment de fécondation qui précède la formation des spores et qui rappelle la conjugaison de Schizosaccharomycètes. Tout dernièrement, cependant Dobell a contesté l'existence de cette fécondation rudimentaire et pense qu'elle résulte d'une erreur d'interprétation. Aussi actuellement, la théorie de la nature mycosique des Bacilles compte de moins en moins de partisans.

Swellengrebel (4) a observé récemment dans divers espèces de Cladothrix une structure analogue à celle des Bacilles endosporés et serait tenté de rapprocher les Bactériacées des Cyanophycées. De même, Dangeard (5) a obtenu dans le



par des caractères dont on ne saurait contester l'importance, telles que la présence de cils et de spores endogènes, l'absence d'un corps central, et constituent dans les Bactériacées un groupe homogène dont les divers représentants offrent tous des caractères communs et qui se caractérisent par l'existence de spores endogènes.

Or dans ce groupe certains auteurs ont décrit une structure très différente de celle que nous avons observée. Tels sont notamment, ARTHUR MEYER, RAYMAN et KRUIS, VEJDOVSKÝ et MENCL, qui admettent l'existence d'un noyau typique.

Nous avons montré que les observations de A. MEYER résultent d'une erreur d'interprétation. Dans les Bacilles endosporés étudiés par cet auteur, on observe à certains stades, dans chaque cellule, un unique corpuscule métachromatique, qui n'est pas utilisé à la formation de la spore et que cette dernière absorbe au moment de sa maturité. C'est très probablement ce corps que M. MEYER avait considéré comme un noyau.

Les résultats de RAYMAN et KRUIS (6) obtenus sur les mêmes espèces que nous avons observées (*Bacilles mycoides, megatherium* et *B. radicosus*) sont également imputables à une erreur d'interprétation. Lors du cloisonnement des cellules, on observe en effet des stades où les cellules offrent un aspect homogène et où chacune d'elles présente un ou deux granules colorables qui ressemblent à s'y méprendre à des noyaux, mais qui ne paraissent être que des différenciations cytoplasmiques destinées à concourir à la cloison transversale. Celle-ci, en effet, semble s'effectuer de la manière suivante: Deux petites granules colorables apparaissent au milieu de la cellule, l'un de chaque côté de la paroi latérale. Ces deux granules ne tardent pas à se rejoindre et à former un seul gros granule séparant la cellule en deux parties et qui constitue l'ébauche de la cloison transversale destinée à séparer les deux cellules filles. Ce granule ressemble d'une manière frappante à un noyau et correspond exactement au noyau qui a été représenté dans les microphotographies publiées par

Chromatium Okenii, la différenciation d'un corps central tout à fait analogue à celui des Cyanophycées; étant donné les rapports qui existent entre ce corps central et les cils du *Chr. Okenii*, cet auteur pense qu'il y a lieu de rapprocher les Bactéries des Flagellés, qui pourraient être considérés comme les ancêtres communs des Cyanophycées et des Bactéries. Certains représentants archaïques des Bactéries, tels que le *Chr. Okenii*, conserveraient une sorte de noyau sous forme de corps central; dans les autres (Bacilles endosporés), ce noyau de dégraderait de plus en plus pour arriver au noyau diffus que nous avons décrit. D'après SWELLENGREBEL et DANGEARD, les Bactéries constitueraient donc un groupement naturel et non hétérogène.

RAYMAN et KRUIS. Il est donc certain que les éléments décrits par ces auteurs comme des noyaux n'ont pas de signification nucléaire et se rapportent au processus de formation de la cloison transversale.

Restent les observations de VEJDOVSKÝ (7) et de MENCL (8). Celles de M. MENCL (relatives aux Bactéries de l'intestin de *Periplaneta orientalis*) s'appliquent à des organismes qui semblent bien correspondre à des Bacilles, mais qui n'offrent pas de sporulation. Quant aux autres observations du même auteur, elles ont été faites sur des Cladothrix, c'est-à-dire des organismes qui semblent s'écarter notablement des Bacilles endosporés et où il peut exister une structure toute différente.

M. M. VEJDOVSKÝ et MENCL ont eu l'amabilité de nous communiquer certaines de leurs préparations. Nous avons pu constater dans les préparations de M. VEJDOVSKÝ la présence d'un noyau très caractérisé dont la nature ne fait aucun doute, mais il nous a semblé que les espèces étudiées par cet auteur aient se rapport plutôt à des Champignons qu'à des Bactéries. En tous cas, l'espèce qu'il a observée dans le *Bryodrilus Elhersi*, est certainement une moisissure.

Quant aux préparations de M. MENCL, sur les Bactéries de *Periplaneta orientalis*, elles ne nous ont pas paru concluantes et en aucun cas nous n'avons pu observer de formation pouvant être nettement attribuée à un noyau. Aussi nous sommes-nous permis de penser que les corps décrits par cet auteur, comme des noyaux, se rattachaient probablement à la formation des cloisons transversales.

Dans son article récent, paru dans ce journal, M. MENCL (1) proteste énergiquement contre notre interprétation de la structure des Bactéries et nous reproche d'avoir mis en doute les résultats favorables à l'existence d'un véritable noyau qu'il a obtenus au cours de ses recherches.

M. MENCL fait remarquer que les Bactéries qu'il a étudiées dans l'intestin des *Periplaneta orientalis* se trouvaient dans leurs conditions de vie ordinaire, alors que les espèces observées par nous provenaient de cultures artificielles. Il est donc possible de trouver dans les premières des caractères de structure que l'on n'observe pas dans les secondes, qui ont pu être modifiées par les conditions artificielles dans lesquelles elles se trouvent. D'ailleurs M. MENCL admet que les Bactéries ont un polymorphisme extrêmement accusé et peuvent offrir un cycle évolutif très compliqué, et ses recherches sur les Cladothrix des eaux de la MOLDAU (8) l'ont amené à confirmer à ce sujet les anciennes observations de BILLET. Il est donc permis de penser que la structure interne des Bactéries varie en même temps que leur forme

extérieure et qu'à chacun des stades de leur cycle évolutif correspondent des caractères cytologiques très différents. Les observations de Schaudinn, de Swellengrebel, de Dobell et les nôtres, qui aboutissent à la conception d'un noyau diffus ou à l'existence d'une spirale chromatique peuvent donc être exactes, bien que ne correspondant pas à la structure décrite par Vejdovský et Mencl, mais être dûs à des états particuliers de la structure des cellules ou à des stades différents du cycle évolutif. M. Mencl nous reproche d'ailleurs de séparer les Bacilles endosporés des autres Bactéries. Pour lui, les Bactéries constituent un groupe homogène présentant une structure commune, et cela lui permet de s'appuyer surtout sur son étude des Cladothrix (8) pour soutenir l'existence d'un noyau dans les bacilles endosporés. C'est qu'en effet M. Mencl reconnaît que la structure des Cladothrix est beaucoup plus démonstrative que celle qu'il a obtenue dans les bactéries du Periplaneta où le noyau ne se différencie que dans certains cas et encore avec beaucoup de difficultés. Or dans les Cladothrix, M. Mencl a observé, tantôt un véritable noyau avec structure différenciée qui se divise, soit par amitose, soit par mitose, tantôt une spirale chromatique, et parfois enfin une fragmentation du noyau en granules dispersés dans le cytoplasme; toutes ces structures sont pour lui des états particuliers du noyau.

M. Mencl montre d'ailleurs que le noyau qu'il décrit ne correspond pas, comme nous le pensons, aux ébauches de la cloison transversale. En effet, l'auteur (10) a pu vérifier nos observations à ce sujet et distinguer, du noyau, les granules qui servent à former la cloison.

M. Mencl proteste donc énergiquement contre notre opinion et persiste à admettre l'existence d'un véritable noyau dans les Bactéries.

Comme M. Mencl ne se borne pas à discuter notre opinion, mais se permet de nous adresser également un certain nombre de critiques de forme d'ailleurs injustifiées, comme on le verra, nous nous sommes donc cru obligés de lui présenter quelques objections et de rectifier certaines inexactitudes de son article.

Nous divisons notre réponse en deux parties: Dans l'une nous discuterons l'opinion théorique de Mencl; l'autre sera consacrée à repondre à certaines critiques de forme que nous adresse l'auteur.

Nous n'insisterons pas trop sur la première partie, connaissant trop l'inutilité de pareilles discussions et laissant à d'autres observateurs le soin de décider quelle est celle des deux opinions en présence qui est la plus conforme à la vérité. Cependant, nous

ferons observer que la structure que nous avons décrite tend de plus en plus à être admise. C'est ce qui, en effet, résulte d'un certain nombre de recherches récentes.

Tout d'abord cette structure est absolument conforme aux conclusions formulées avant nous par SCHAUDINN (11) dans ses importants mémoires sur le *Bacillus sporonema* et *Bacillus Bütschlii*, et par VLADISLAV RŮŽIČKA[1]) (12) qui a constaté, dans un grand nombre de Bactéries, que les granules chromatiques du cytoplasme et les ébauches des spores présentent tous les caractères histo-chimiques du noyau. Cet auteur a repris tout récemment (1) ses observations avec l'étude des *Bacillus nitri* et a obtenu des résultats qui con-

---

[1]) Dans ce dernier mémoire M. RŮŽIČKA nous reproche de n'avoir pas cité ses travaux qu'il considère comme tout à fait concordant avec les nôtres. Nous tenons à faire remarquer à ce sujet que dans son premier article paru en 1903 M. RŮŽIČKA décrit, dans un grand nombre de Bactéries, des granulations colorables, mais qu'il ne donne pas une interprétation très précise de leur signification. Selon lui, ce ne sont ni des produits de réserve, ni de véritables grains de chromatine. En outre, comme il constate que ces granulations offrent souvent des propriétés métachromatiques et qu'il les retrouve dans certaines moisissures, il est permis de penser qu'elles ne correspondent pas avec celles que nous avons observées dans les Bacilles endosporés et se rapportent plutôt à des corpuscules métachromatiques. C'est pour cela que nous avons négligé de mentionner l'étude de RŮŽIČKA dans la discussion de notre mémoire sur la cytologie des Bactéries. Nous connaissions cependant les recherches de cet auteur que nous avons signalé dans notre Revue générale sur la cytologie des Bactéries (Bull. de l'Institut Pasteur 1907). Quant au second mémoire de M. RŮŽIČKA, où cet auteur décrit, dans le *B. nitri*, une structure analogue à celle que nous avions constatée dans les Bacilles endosporés et signalée dans des notes préliminaires dès 1905, nous ne l'avons pas mentionné parce qu'il a paru en 1908, en même temps que le nôtre et que nous ne pouvions en avoir connaissance.

Nous ajouterons en outre que M. RŮŽIČKA ne paraît pas avoir bien compris certains passages de notre mémoire, lorsqu'il dit à propos des corps que nous décrivons comme les ébauches des spores:

„Je voudrais faire remarquer qu'un certain nombre de formations interprétées par GUILLIERMOND comme des spores n'en sont pas. Ainsi par exemple la grosse sphère de la figure 44 pl. III et les figures 54, 66 et 71 à 73 pl. IV qui sont des grains sporoïdes; les vraies spores ne présentant jamais de dimensions qui dépassent la diamètre de la cellule végétative."

Or ces formations, du moins les figures 54 et 66 à 71, ne sont pas interprétées par nous non plus comme des spores, ce sont des corpuscules métachromatiques (voir le texte de notre mémoire, page 26). Dans la légende d'ailleurs nous disons, à propos de ces figures. „Les corpuscules métachromatiques sont très nombreux et leur dimension dépasse souvent le calibre du bacille, ce qui donne à ce dernier un aspect moniliforme." Quant aux figures 44 de la pl. III et aux figures 71 à 73, ce sont manifestement des ébauches de spores, et, dans la figure 73, nous représentons précisément une spore adulte qui a la même forme.

cordent avec les nôtres. Seulement son interprétation est différente; Růžička considère la cellule toute entière comme une sorte de noyau libre, dont la trame constituerait la charpente lininienne et dont les granulations colorables représenteraient les grains de chromatine. Il n'admet donc pas la théorie chromidiale soutenue par Schaudinn et par nous.

La structure que nous avons décrite correspond en outre avec des observations postérieures aux nôtres de Swellengrebel, de Dobell et de Ambroz.

Swellengrebel (13) avait décrit d'abord dans plusieurs organismes, dont le *Bacillus maximus buccalis*, une spirale chromatique traversant la cellule dans sa longueur et qu'il assimilait à une sorte de noyau. Dans un mémoire tout récent Swellengrebel est revenu sur sa première opinion et semble se rallier à la nôtre. Il abandonne sa conception d'une véritable spirale chromatique qu'il admet correspondre en partie à la trame d'une structure alvéolaire du cytoplasme, et il décrit [1]) une structure à peu près analogue à celle que nous avons observée, avec un cytoplasme alvéolaire et de la chromatine disséminée dans la trame sous forme de granules et surtout de filaments.

Quant à Dobell (14) il décrit également un noyau diffus dans le *Bacillus flexilis*, observé dans l'intestin de la grenouille et du crapaud. Toutefois dans le *B. Spirogyra* et le *B. lunula*, deux nouvelles espèces qu'il a rencontré avec le *B. flexilis* dans l'intestin des crapauds et des grenouilles, Dobell, constate une organisation plus différenciée. Dans ces deux espèces, les grains de chromatine, au lieu d'être disséminés dans le cytoplasme comme dans le *B. flexilis*, sont réunis en un système chromidial continu, sous forme d'un filament rectiligne ou spiralé, qui longe la cellule suivant son axe longitudinal. Dans une note préliminaire (16) parue tout récemment, nous avons montré nous mêmes l'existence d'une structure absolument analogue à celle du *B. lunula*, dans plusieurs Bactéries (deux Bacilles et une Spirille de l'intestin des Echinocardium de Wimereux).

[1]) Récemment encore, Swellengrebel (4) a retrouvé une structure assez analogue dans deux organismes différents des Bacilles endosporés: *Sphaerotilus nitans*, *Thiothrix nivea* et *T. tenuis*. Il observe un noyau diffus constitué tantôt par une sorte de spirale chromatique, tantôt par des granulations réparties dans tout le cytoplasme. Il admet donc que les Bactéries présentent un noyau diffus, c'est-à-dire un cytoplasme renfermant des grains de chromatine qui parfois peuvent se condenser en un filament chromatique.

AMBROZ (16) a repris récemment l'étude du *B. nitri* de RŮŽIČKA et a observé une structure identique à celle que nous avions obtenue dans les Bacilles endosporés, avec granulations chromatiques disséminées dans le cytoplasme. Notons que cet auteur est arrivé a vérifier entièrement nos observations relatives à la formation des cloisons transversales et qu'il pense comme nous que les noyaux décrits par M. MENCL se rattachent aux l'ébauches de ces cloisons.

La conclusion de ces différentes recherches est donc que les Bacilles offrent un appareil nucléaire très primitif, tantôt sous forme de système chromidial diffus comme dans la plupart des bacilles endosporés que nous avons observé, tantôt sous forme de système chromidial continu ou de filament axial comme dans les Bacilles décrits par DOBELL et dans les Bactéries de l'Echinocardium. En tous cas, cette série d'observations importantes apporte une remarquable confirmation à notre opinion et il semble difficile d'admettre que des observateurs aussi expérimentés que SCHAUDINN et DOBELL n'aient pu arriver à différencier un noyau, si ce noyau existe comme le soutient M. MENCL, dans des espèces de grandes dimensions (4 μ de large), les plus grandes que l'on connaisse actuellement, telles le *Bacillus Bütschlii* et le *Bacillus flexilis.*

SCHAUDINN nous avait d'ailleurs communiqué des préparations qui ne laissaient aucun doute sur l'existence de la structure qu'il a décrite. En outre ces préparations présentaient une analogie complète avec celles que nous avons obtenues pour des Bacilles plus petits, tels que *Bacillus radicosus*, *Bacillus mycoïdes*, *Bacillus megatherium* et *Bacillus limosus.*

D'autre part quelque puisse être le polymorphisme des Bactéries, que d'ailleurs M. MENCL semble notablement exagérer, il est permis de considérer les Bacilles endosporés comme un groupe homogène dont on connait le cycle évolutif depuis la germination de la spore jusqu'à la sporulation.

Or les études de SCHAUDINN, de DOBELL et les nôtres ont porté sur tout le cycle évolutif des Bacilles endosporés, depuis la germination des spores jusqu'à la sporulation, et en aucun cas, il n'a été trouvé de formation analogue à un noyau, sauf en ce qui concerne l'ébauche de la spore ou la spirale chromatique décrite par DOBELL dans certaines espèces. De plus, si les Bacilles que nous avons observés provenaient de cultures artificielles et pouvaient par conséquent présenter une structure spéciale, celles qui ont été étudiées par SCHAUDINN et DOBELL se trouvaient dans leurs conditions naturelles, dans l'intestin de certains animaux.

Quant aux arguments tirés de la présence d'un véritable noyau dans les Cladothrix, ils n'ont pas à notre avis la moindre valeur, car les Cladothrix semblent être des organismes assez différents des Bacilles endosporés. D'ailleurs nous avons en l'occasion d'observer certaines espèces de Cladothrix dans lesquels nous avons pu retrouver en partie la structure, décrite par M. Mencl. Nous avons cru y observer en effet, à certains stades la présence d'une sorte de noyau ou de pseudo-noyau et à d'autres une transformation de ce dernier en spirale chromatique, puis en noyau diffus. Nous avons dû malheureusement interrompre nos recherches sur ce sujet, préoccupés par d'autres études, mais nous espérons bien pouvoir les reprendre dans l'avenir.

Enfin, nous répéterons pour terminer cette discussion que nous avons examiné avec la plus grande attention les préparations des Bactéries des Periplaneta que M. Mencl a eu l'amabilité de nous adresser, et que nous n'y avons absolument rien vu, qui puisse se rapporter à un véritable noyau.

Il est vrai que certaines observations récentes (1) semblent favorables à l'existence d'un noyau dans certains bacilles.

Swellengrebel (17) a décrit deux noyaux typiques dans les cellules du *Bacterium binucleatum* et A. Meyer (17) a observé un noyau dans la spore du *Bacillus pastorianus*. Il se peut que certains bacilles plus évolués présentent une structure différente de celle que nous avons décrite et que d'ailleurs nous ne prétendons pas généraliser. Mais cela n'infirme pas les résultats que nous avons obtenus sur d'autres bacilles. Nous pensons seulement que le plus grand nombre des Bacilles endosporés n'offre pas de noyau typique, mais une sorte de noyau diffus. Nous n'avons pas même eu l'idée de nier définitivement l'existence du noyau décrit par M. Mencl dans les Bactéries du Periplaneta. Nous nous sommes bornés à formuler des doutes très sérieux: nous avons prétendu seulement que les

---

[1]) Amato (19) prétend également avoir observé un noyau dans le *B. mycoïdes* et le *Spirillum volutans*. Il décrit au début du développement un granule central d'aspect homogène, unique dans chaque cellule, qu'il interprète comme un noyau. Dans la suite, il observe une structure alvéolaire avec grains de chromatine disséminés, dans la trame, c'est-à-dire une structure absolument analogue à celles décrites par Schaudinn, Dobell, Swellengrebel et par nous. Il considère les grains de chromatine comme des chromidies dérivées de la fragmentation du noyau et constituant un système chromidial. Les observations, faites uniquement à l'aide de colorations vitales au Brillantkresylblau, ne peuvent pas apporter un argument en faveur de l'existence d'un noyau à certains stades, et il nous paraît certain que le granule colorable interprété par l'auteur comme un noyau représente l'ébauche de la cloison transversale ou un corpuscule métachromatique.

préparations de cet auteur ne nous avaient absolument rien montré de démonstratif à ce sujet et que les granules décrits comme noyaux par cet auteur nous paraissaient se rapporter exclusivement aux formations des cloisons transversales.

Voici d'ailleurs en propre terme la seule remarque que nous ayons faites à ce sujet:

„M. Mencl paraît bien avoir commis la même erreur (confondre l'ébauche de la cloison transversale avec le noyau), dans ses premières recherches ainsi qu'il nous a paru, d'après l'examen des préparations qu'il a bien voulu nous envoyer. Nous y avons vu des parties fortement colorées donnant l'impression de noyaux, mais paraissant se rapporter à des cloisons transversales; jamais nous n'avons pu constater la présence de véritables noyaux. M. Mencl semble donc confondre l'ébauche de la cloison transversale avec un noyau et il considère en tous cas les cellules en voie d'actives divisions traversées par une série de bandes colorées ou rapprochées les unes des autres comme des stades d'anaphase d'une ou de plusieurs mitoses s'accomplissant simultanément dans la même cellule."

En somme, nous persistons donc à maintenir énergiquement notre opinion et affirmer de l'absence d'un véritable noyau dans le Bacilles endosporées que nous avons examinés.

Il ne nous reste maintenant à répondre à certaines critiques spéciales que nous adresse M. Mencl et qui sont formulées dans un style qui dépasse l'esprit de modération et de courtoisie qu'on doit apporter à toute question scientifique. Ces critiques sont au nombre de deux:

1° Tout d'abord M. Mencl nous reproche d'avoir représenté quelques uns de ses dessins sous forme d'un schéma modifié en faveur de notre opinion.

Voici d'ailleurs comment il s'exprime à ce sujet:

„So schauen die Sachen auf meinen Tafeln aus. Ganz anders ist es nach dem obenerwähnten Schema Guilliermond's. Anstatt eines typischen Kerns zeichnet er als Ausgangspunkt seiner Cloisonsbildung zwei der Zellmembran anliegende Punkte! Jeder Unbefangene, der sich dieses „Schema" anschaut, wenn er dabei meine Abbildungen kennt, muß zugeben, daß Guilliermond hier mehr als übertrieben hat" et ailleurs: „Dagegen muß ich mich entschieden verwahren, weil er meine Originalbilder unrichtig auffaßt und wiedergibt und äußerst willkürlich verändert."

Il s'agit ici du schéma 2 (page 21) de notre article. Nous ferons simplement remarquer que M. Mencl ne s'est pas donné la



peine de traduire la légende de ce schéma ou en a mal compris le sens.

Cette légende est ainsi conçue: „Formation des cloisons transversales attribuée par M. Mencl à des stades de reconstitution nucléaire.“ Il ne s'agit donc pas d'un schéma, représentant les figures de M. Mencl, mais d'un schéma fait d'après nos préparations de Bacilles bien différents de ceux du Periplaneta, mais où la formation des cloisons transversales ressemble tout à fait aux figures attribuées par M. Mencl à des stades de reconstitution nucléaire. Il est facile de voir d'ailleurs que les figures représentées dans ce schéma ne sont pas une copie des figures dessinées par M. Mencl.

L'auteur aurait donc dû traduire plus exactement la légende de cette figure avant de formuler une critique aussi grave et aussi injustifiée.

2° M. Mencl nous reproche encore de n'avoir pas mentionné son dernier article (10) sur les Bactéries des Periplaneta, dans lequel il montre que les ébauches de cloisons figurées par nous ne correspondent pas aux noyaux qu'il a décrits. Mais M. Mencl ignore que notre article (2) a été déposé à l'imprimerie le 1er janvier 1908 et n'a paru qu'au mois de Juin. Son article auquel, il fait allusion, a paru au contraire en Avril et nous n'en n'avons eu connaissance qu'après avoir corrigé les épreuves du nôtre. Il nous était donc impossible de signaler cet article que nous ignorions complètement.

Un autre point doit encore nous occuper. M. Mencl dit à la fin de son article:

„Auf meine direkte Anfrage an meinen hochgeehrten Lehrer und Chef, Prof. Vejdovský, wie sich eigentlich die Sache mit der abweichenden, bei Gelegenheit des Berner Kongresses geäußerten Anschauungsweise seitens des leider so früh verstorbenen Forschers Schaudinn verhält, hat mir der Obengenannte folgendes mitgeteilt:

Nach dem Abschlusse meines Vortrages hat sich der anwesende Schaudinn gegen meine Deutung des in Frage stehenden Organismus als eine Bacterienart gewissermaßen skeptisch verhalten und die Meinung ausgesprochen, es handle sich eigentlich um eine neue Art von Sproßpilzen. Andere Anwesende, wie z. B. Schewiakoff, der sich bekanntlich ebenfalls mit den Spaltpilzen befaßte, haben sich über den bacteriellen Charakter des Organismus entschieden zustimmend ausgesprochen. Nach der Berichtigung der vorgelegten Präparate hatte sich nachher auch Schaudinn dieser Ansicht angeschlossen; aus diesem Grunde ist es erklärlich, daß Schaudinn

seine Einwände nicht veröffentlichte und sich einfach meinem Antrage angeschlossen hatte, es wäre angezeigt, den Organismus an Ort und Stelle, d. h. an dem Garschinasee selbst einer eingehenden Prüfung zu unterwerfen.

Soweit mir bekannt ist, war Guilliermond nicht anwesend, und ich weiß nicht, wer ihn über die ursprüngliche Stellungnahme Schaudinn's gegen das *Bacterium Gammari* unterrichtet hatte."

Ici encore Mencl eut mieux fait de s'abstenir. Il est bien exact que nous n'assistions pas au Congrès de Berne, mais M. Mencl ignore que les comptes rendus des travaux de ce Congrès ont paru dans différents journaux scientifiques et voici précisement ce qu'en disent MM. Caullery et Mesnil (20) dans la Revue générale des Sciences (1904, p. 886).

„Vejdovský (Prague) expose des préparations d'un organisme parasite dans le sang d'un Crustacé (*Gammarus Zschokkei* du lac de Garschina et que l'auteur considère comme une Bactérie (*Bacterium Gammari*); or on y trouve un noyau admirablement net et l'on sait que jusqu'ici il avait été impossible de mettre en évidence un noyau bien individualisé chez les Bactéries.

Le fait apporté par Vejdovský aurait donc un grand intérêt si l'organisme en question était une véritable Bactérie, mais ce dernier point ne va pas sans quelque doute et Schaudinn notamment a émis l'opinion qu'il pourrait bien être un Schizosaccharomyces où des noyaux analogues sont bien connus par divers travaux, notamment ceux de Guilliermond."

Index bibliographique.

1) Mencl: Les noyaux des bactéries et les cloisons transversales de Guilliermond. Arch. f. Protistenk. 1909.
2) Guilliermond: C. R. de l'Acad. des Sciences 1906; C. R. de la Soc. de Biol. 1907, Arch. f. Protistenk. 1908.
3) A. Meyer: Flora 1899.
4) Swellengrebel: Arch. f. Hygiene, 1909.
5) Dangeard: Bull. de la Soc. de Botanique de France, 1909.
6) Rayman et Kruis: Bull. intern. de l'Ac. des Sciences de Bohème, 1904.
7) Vejdovský: Centralbl. f. Bakter. Abt. II, 1900, T. VI, et Centralbl. f. Bakter. Abt. II, 1904, T. XI.
8) Mencl: Centralbl. f. Bakter. Abt. II 1904 T. XI.
9) —: Centralbl. f. Bakter. 1905.
10) —: Arch. f. Protistenk. 1908.
11) Schaudinn: Arch. f. Protistenk. 1902 et 1903.
12) Vladislav Růžička: Arch. f. Hyg. 1903—1908; Centralbl. f. Bakter. 1909.
13) Swellengrebel: Centralbl. f. Bakter. 1907; Centralbl. f. Bakter. 1909.
14) Dobell: Quart. Journ. of micr. 1908 et 1909.
15) Guilliermond: C. R. de la Soc. de Biol., 1909.
16) Ambroz: Centralbl. f. Bakter. 1909.
17) A. Meyer: Flora 1908.
18) Amato: Centralbl. f. Bakter. 1909.
19) Caullery et Mesnil: Revue générale des Sciences, 1904, p. 886.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Bern.
Direktor: Prof. Dr. Studer.

Die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens.

Von

Dr. Erwin Liebetanz,

prakt. Tierarzt, Janowitz i. P.

(Hierzu Tafel I u. II und 1 Textfigur.)

Einleitung.

Die parasitischen Protozoen und unter ihnen die Krankheitserreger haben eine große Bedeutung. Einige von diesen will ich hier nur herausgreifen (1). Die Myxosporidien, zu den Sporozoen gehörig, rufen Epidemien unter Fischen und Seidenspinnen hervor, die Hämosporidien, *Plasmodium Malariae,* die Malaria des Menschen, die Coccidien, *Coccidium oviforme* Verheerungen unter den Kaninchen. Die bei weitem gefährlichsten Krankheitserreger aber sind die Flagellaten. Sie spielen auch gegenwärtig wieder die größte Rolle. Die Trypanosomen rufen in Südafrika die Tsetsekrankheit unter Pferden, Zebras, Rindern und Hunden hervor, welche die Viehherden dezimiert, in Indien die Surrakranheit, in Südamerika das *Mal de caderas.* Trypanosomen sind auch die Erreger der Schlafkrankheit, welcher in Uganda 200000 Menschen zum Opfer fielen. Die Mondblindheit der Pferde sollte unter anderem durch Monaden hervorgerufen werden. (2)

Auch der Entwicklungsgang, den die Flagellaten nehmen, ist beachtenswert. Wir sehen sie als unschuldige kleine Lebewesen im



Süßwasser auf faulenden Substanzen leben. Dann kommen sie durch die Nahrung in den menschlichen oder tierischen Magen und Darm, wo sie als unschuldige Parasiten ihr Leben fristen und den großen Infusorien zur Beute fallen, bis sie schließlich gefährliche Krankheitserreger werden.

Ich habe nun den Wiederkäuermagen in Bezug auf Protozoen einer Durchsicht unterworfen; ich entdeckte Flagellaten, welche meines Wissens bisher noch nicht beschrieben worden sind. Außerdem fand ich Amöben und Dinoflagellaten. Auch einiges Neue über die Infusorien des Wiederkäuermagens will ich mitteilen. Im zweiten Teil der Arbeit machte ich Versuche zur Erforschung der Infektion der Wiederkäuer mit den Flagellaten und Infusorien.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. STUDER erlaube ich mir für die Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank zu sagen. Desgleichen bin ich Herrn Prof. Dr. ED. FISCHER für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegen gebracht hat, zu herzlichem Dank verpflichtet ebenso wie Herrn Privatdozent Dr. W. VOLZ.

Literaturübersicht.

Zwei Angaben sind es, welche ich über die Flagellaten des Wiederkäuermagens gefunden habe. Die erste steht im Artikel „Monadiens" von DAVAINE (3) aus dem Jahre 1875. Er sagt auf Seite 117: „parmi ces petits êtres dont les formes sont très variées il se trouve certainement des Monadiens." Er stellt die Behauptung auf, daß im Pansen der Wiederkäuer Monaden vorkommen müssen.

Die zweite Angabe hat CERTES (4) im Jahre 1889 gemacht. Er schreibt eine Arbeit über die Flagellaten des Pansens der Ziege, welche eine Seite in dem Journal de Micrographie einnimmt. Er beschreibt ein Flagellat, dessen Breite 2—3 μ, dessen Länge 8—9 μ beträgt. Die Körperform ist die eines Halbmondes; oft nimmt sie S-förmige Gestalt an. Ein oder zwei Geißeln sind vorhanden; das kann er aber nicht mit Sicherheit entscheiden. Der Ansatzpunkt derselben befindet sich in der Mitte der gekrümmten Partie. Er nennt dieses Flagellat *Ankyromonas Ruminantium*, weil es eine Ähnlichkeit mit dem von KENT (41) im Meerwasser gefundenen *Ankyromonas sigmoides* haben soll. Bemerken will ich hierzu, daß es ein derartiges Flagellat weder im Pansen der Ziege noch in dem irgendeines Wiederkäuers gibt.

Noch eine zweite Species beschreibt er. Diese Flagellaten sind oval, die Länge derselben beträgt 8—10 μ, die Breite 2—3 μ. Die Fort-

pflanzung soll durch Teilung und „Sprossung“ vor sich gehen. Er gibt keine Geißel, auch keine Bewegung der ovoiden Gebilde an. Es ist möglich, daß hier eine Verwechslung mit Schimmelpilzen vorgekommen ist. Nach seiner Meinung sollen seine Flagellaten eine wesentliche Rolle bei der Verdauung spielen.

Material und Untersuchungsmethoden.

Die Beschaffung des Materials bereitet keine Schwierigkeiten. Mir stand dasselbe zu jeder Zeit und in jeder beliebigen Menge auf den hiesigen Schlachthöfen zur Verfügung. Herrn Lektor RAEBER, Direktor des neuen Schlachthofes sage ich für seine mir zu jeder Zeit in liebenswürdigster Weise entgegengebrachte Unterstützung meinen herzlichsten Dank. Desgleichen Herrn GERBER, Direktor des alten Schlachthofes. Meine Untersuchungen erstreckten sich auf das Rind, das Schaf und die Ziege. Mit einem spitzen Messer wurden die betreffenden Magenabteilungen der frisch geschlachteten Tiere angestochen und durch diese Öffnung der Panseninhalt in ein Glas gelassen. Im Sommer brachte ich die Gefäße nur mit Papier umwickelt frei in der Hand nach dem ca. 15 Minuten davon entfernten Laboratorium des Zoologischen Instituts; im Winter wurden dieselben dagegen in den Taschen der Beinkleider untergebracht. Auf diese Weise habe ich das Material stets gut erhalten, und nicht ein einziges Mal ist die Temperatur so gesunken, daß sie ein Absterben der Protozoen hervorgerufen hätte. Im Laboratorium habe ich dann die Gläser im Brutofen auf einer Temperatur von 35—37° C gehalten und es so bewerkstelligt, daß die Flagellaten 1—5 Tage am Leben blieben. Ich habe dabei wahrgenommen, daß die Flagellaten und Infusorien eher starben, wenn ich ein kleines Glas mit wenig Panseninhalt nach dem Institut gebracht hatte, daß sie dagegen der Regel nach länger lebten, wenn eine größere Menge Panseninhalt in einem großen Glase untergebracht war.

Der Tod der Flagellaten in den Futtermassen wird, abgesehen von den Temperaturschwankungen, dadurch hervorgerufen, daß die alkalische, neutrale oder schwach saure Reaktion der Inhaltsmassen infolge der auftretenden Gärungs- und Fäulnisprozesse in eine stark saure übergeführt wird.

Bringt man einen Tropfen Pansenflüssigkeit auf den Objektträger, so kann die Untersuchung sofort oder nach Verdünnung des Materials mit Leitungswasser von 35—37° C vorgenommen werden.

Die Methoden, welche mir zur Erforschung der Flagellaten dienten, sind folgende:

1. Die Vitalfärbung mit Neutralrot nach EHRLICH (42).
2. Eine stark verdünnte Lösung von Anilinschwarz nach CERTES (5).
3. 0,5—2 proz. Gelatinelösung nach JENSEN (7).

Die Beweglichkeit der Flagellaten und besonders deren Geißel ist groß. Steht das Material 12—14 Stunden im Brutofen, so hat die Schnelligkeit

der Bewegung schon nachgelassen, so daß das Studium jetzt leichter geworden ist. Um aber zu jeder beliebigen Zeit die Beweglichkeit der Flagellaten und deren Geißeln zu beeinträchtigen, wendet man mit gutem Erfolg die Gelatinelösung an, welche je nach der Konzentration die Bewegungsintensität herabsetzt.

4. Anfertigung von Dauerpräparaten, Einzelmethode nach F. DOFLEIN (8). Seite 33 und 34 seines Buches, „die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger," gibt er 3 Methoden an. Ich fand, daß die erste für unseren Zweck am besten geeignet ist. Die Fixation geschieht mit Pikrinessigsäure, hierauf wird mit Alkohol ausgewaschen und mit Boraxkarmin gefärbt. Ein Moment, welches sehr wichtig ist, muß hier noch Berücksichtigung finden. Die Pansenflüssigkeit ist wässerig, sie enthält nur Spuren von Eiweiß, sie klebt daher nicht auf dem Objektträger, sondern wird bei Präparationen heruntergespült. Um das zu vermeiden, habe ich mit gutem Erfolg zu einem großen Tropfen Pansenflüssigkeit einen kleinen Tropfen Eiweißlösung hinzugesetzt, dann die Präparate weiter wie aufgeklebte Schnittserien behandelt.

Am vorteilhaftesten ist es aber, nachdem man die Flagellaten mit allen diesen Methoden untersucht hat, sie so zu studieren, wie sie unbeeinflußt in der normalen Pansenflüssigkeit vorkommen. Dadurch kann man am schönsten die Gestalt, die Länge der Geißel, die Bewegung derselben, überhaupt alle vitalen Eigenschaften erkennen, wie sie das Flagellat tatsächlich äußert: denn durch alle oben erwähnten Behandlungen werden die kleinen, äußerst zarten Lebewesen in veränderte Lebensbedingungen gebracht, welche eine Gestaltsveränderung zur Notwendigkeit machen.

5. Die Anwendung einer verdünnten Jodlösung nach DAVAINE (3), um die Geißel darzustellen; das Jod tötet die Flagellaten, damit auch die Geißeln, welche jetzt der Regel nach sichtbar werden.

6. Die Geißelfärbung.

a) Eintrocknung des Präparats und Färbung mit konzentrierter wässriger Fuchsinlösung nach A. FISCHER (9).

b) Die Geißelfärbung nach A. FISCHER (9).

FISCHER hat das bekannte LÖFFLER'sche Beizverfahren (11), mit welchem dieser die Flimmergeißel an einer Oikomonasart, wahrscheinlich *Oikomonas*, entdeckt hat, weiter ausgearbeitet und damit die Geißeln einer Reihe von Flagellaten gefärbt.

Bei der Herstellung der Beize [1]) soll man auf verschiedene Punkte achten. Das Tannin, beste Qualität, muß möglichst trocken aufbewahrt werden, weil es leicht Wasser anzieht. Die abgewogene Menge wird unter schwachem Erwärmen in Wasser gelöst und dann die Eisen- und Sulfatlösung zugegossen. Die Eisenvitriollösung darf nur so lange verwendet werden, als sie grün oder schwach gelblich aussieht. Durch Oxydation stark gelblich oder bräunlich gewordene Lösung ist unbrauchbar. Nach dem Vermengen alter Bestandteile wird die Beize filtriert; hierbei

[1]) 2,0 trockenes Tannin,
20,0 Aqu. dest.,
4 ccm Eisensulfatlösung 1 : 2,
1 ccm conc. alc. Fuchsinlösung 1 : 10.

muß ein voluminöser, dickbreiiger Filterrückstand übrig bleiben. Ohne einen solchen durchfließende Beize ist zu verwerfen. Die filtrierte Beize ist sogleich nach ihrer Herstellung brauchbar und behält ihre Wirksamkeit mehrere Wochen. Die Beize ist vor Licht zu schützen. Oben hergestellte Beize sieht blauschwarz aus.

Mit dieser Beize gelang es mir jedoch nicht, gute Resultate zu erzielen.

c) Die Geißelfärbung nach TAVEL.

Durch Vermittlung eines Herrn Kollegen erhielt ich die Beize mit dem Verfahren von TAVEL, welche sich als sehr geeignet erwiesen.

1. Die Bereitung der Beize:

1 ccm konzentrierte Fuchsinlösung,
5 „ kalt gesättigte Ferrosulfatlösung,
10 „ Tanninlösung (Tannin 20 + Aqu. dest. 80)
und einen Zusatz einer gewissen Anzahl Tropfen einer 1 proz. Natronlauge resp. einer volumetrisch gleichen Schwefelsäurelösung. Die Anzahl dieser Tropfen ist für die verschiedenen Bakterien verschieden. — Ich nahm der Regel nach vier Tropfen.

2. Die Bereitung der Farbe:

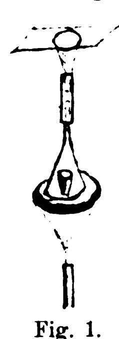
1,0 fein gepulvertes festes Fuchsin,
150,0 Anilinwasser (5 ccm Anilinöl + 100 ccm Aqu. dest. schütteln und auf nassem Filter filtrieren).
Gleich vor der Färbung setzt man zu 6—8 ccm dieser Farbe 1—2 Tropfen einer 1 proz. Natronlauge, bis der Zustand der Schwebefällung eintritt. — Ich nahm einen Tropfen.

3. Die Färbung:

α) Einwirkung einer einen Tag alten Beize 1—5 Minuten lang.
β) Erwärmen ohne Blasenbildung über kleiner Flamme.
γ) Erkalten lassen 1—5 Minuten lang.
δ) Abspülen mit leichtem Strahl von Aqu. dest., bis keine Beize mehr zu sehen ist (eventuell noch mit Alkohol).
ε) Trocknen des Präparats auf der Rückseite.
ζ) Einwirkung der Farblösung 2—5 Minuten über kleiner Flamme bis zum Dampfen und eventuelles Nachgießen einiger Tropfen Farbe.
η) Abspülen mit Wasser.

Zunächst nahm ich die Entfettung der Objektträger vor. Sie wurden in Xylol gebracht, darauf mit einem Hirschlederlappen trocken gerieben. Jetzt kamen sie in absoluten Alkohol, der über der Bunsenflamme abgebrannt wurde. Eine Spur der Pansenflüssigkeit wurde auf den Objektträger gebracht, sie wurde in ganz dünner Schicht leise ausgestrichen, damit die Eintrocknung schnell erfolgen konnte, was gewöhnlich in 1—3 Minuten vor sich ging. Dieses schnelle Eintrocknen hat zur Folge, daß die Geißeln nicht so zahlreich abgeworfen werden können. Sie werden aber doch zum Teil abgeworfen. Um auch dies zu vermeiden, wird ein Tropfen Pansenflüssigkeit über 1 proz. Osmiumsäuredämpfe (12) kurze Zeit gehalten. Die Protozoen werden sofort getötet, desgleichen die Geißeln, welche sich dann weder zersetzen noch abfallen können. Damit keine Schädigung der menschlichen Schleimhaut durch die giftigen Osmiumsäure-

dämpfe eintritt, habe ich auf die Asbestplatte, unter welcher der Bunsenbrenner angebracht war, ein kleines Porzellantöpfchen gesetzt. In dieses wurde die verdünnte Osmiumsäure gegossen. Darüber wurde ein Glastrichter gestülpt. Die Spitze desselben wurde vermittels eines kleinen Gummischlauches mit der Spitze eines zweiten kleinen Glastrichters verbunden. Der Durchmesser der Basis desselben war so groß wie der Objektträger breit war. Auf diese Weise trat ein hermetischer Abschluß ein. Die Fixation der Protozoen tritt der Regel nach sofort ein. Wird nicht mit Osmiumsäure fixiert, so werden die mit dem Ausstrich versehenen Objektträger in die Trockenkammer gesetzt, damit kein Luftzug über das Glas streichen kann. Sind die Objektträger lufttrocken, so werden sie fixiert, indem sie schnell einmal durch die Flamme gezogen werden, oder man erfaßt sie mit Daumen und Zeigefinger und hält sie kurze Zeit über eine Spiritusflamme. Die Absicht dieses Verfahrens ist, eine zu starke Erhitzung des Objektträgers zu vermeiden (9). Jetzt werden sie erst in der oben angegebenen Weise gebeizt und gefärbt. Die Beize zersetzt sich schnell, sie ist daher nur einmal zu gebrauchen. Auch ein zu starkes Erwärmen bei der Beizung ist zu vermeiden, es darf eben der erste Rauch aufsteigen.


Fig. 1.

Spezieller Teil.

In der Einteilung der niedersten Flagellaten besteht noch ein großer Wirrwarr, jeder Forscher hat seine eigene Einteilung, welche ich kurz, nur soweit ich sie brauche, erwähnen will:

STEIN (13) unterscheidet *Cercomonas* und *Monas*.

KENT (41) stellt die Familie *Cercomonadina* auf mit den Gattungen *Oikomonas*, *Cercomonas*, *Monas*.

BÜTSCHLI (15) verwirft die Gattung *Monas*, er teilt ein:

I. Unterordnung *Monadina*. 1. Fam. *Rhizomastigina* gen. *Mastigamoeba*. 2. Fam. *Cercomonadina*, gen. *Cercomonas*, gen. *Oikomonas* usf.

Cercomonas STEIN bringt er unter in seinen Gattungen *Oikomonas* und *Cercomonas*.

KLEBS (17) stellt „das System der Flagellaten" auf. I. *Protomastigina*. 1. Fam. *Rhizomastigina* BÜTSCHLI. 2. Fam. *Monadina*. Er sagt Seite 304 in der Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie Bd. 55 im Jahre 1893: „Die Familie *Monadina* fasse ich anders auf als BÜTSCHLI, sie entspricht seiner Familie der *Cercomonadina* und einem Teil der *Heteromonadina*. Denn wegen der gleichen Organisation des Körpers, der gleichen Art der Nahrungsaufnahme bringe ich die Gattung

Oikomonas in nächste Nähe von *Monas*, wenn auch bei letzterer zu der einen Geißel von *Oikomonas* noch eine zweite kleine Nebengeißel kommt.“ Im Übrigen gehe ich nicht weiter auf die Gruppe ein, welche nur sehr provisorisch ist. Da eine Reihe von Gattungen vorläufig zu ihr gestellt werden müssen, welche teils nicht näher bekannt sind, teils wegen mangelnder Zwischenglieder überhaupt zunächst nicht unterzubringen sind. Den Hauptgattungen *Oikomonas* Kent, *Monas* Stein wird *Cercomonas* angeschlossen.

Aus den bisher bezeichneten Systemen wird das Beste herausgenommen und in dem Werke B. Eyferth's einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreichs (18) niedergelegt.

Dort ist die Einteilung, welcher ich mich anschließe, folgende:

Flagellaten.

I. *Protomastigina.*

1. Fam. *Rhizomastigina.*
gen. *Mastigamoeba.*

2. Fam. *Cercomonadina*
gen. *Cercomonas*,
gen. *Oikomonas.*

Auch hier sind die Gattungen *Cercomonas* und *Oikomonas* noch nicht scharf genug gekennzeichnet; zur Gattung *Cercomonas* werden kugelige Tiere gerechnet! Ich werde mich im Großen und Ganzen an diese Einteilung halten. Ich kann jedoch unmöglich ein kugelrundes Lebewesen plötzlich unter die schwanzartigen werfen. Ich werde daher versuchen, meine Flagellaten, welche ich in dem Wiederkäuermagen gefunden habe, nach bestem Können und Wissen einzuteilen und zu charakterisieren, indem ich dabei neue Namen bringen muß, welche nach dem Aussehen, der Größe und Gestalt der kleinen Lebewesen gemacht worden sind. Ich stelle die Familie der *Cercomondina* in der Arbeit an die Spitze, weil die Flagellaten ständig vorkommen.

Familie ***Ceromonadina*** Kent emend. Bütschli.

Körper klein, häufig amöboid besonders am Hinterende. Am Vorderende eine Geißel. Vermehrung durch Zweiteilung im beweglichen Zustande.

I. Gattung: *Sphaeromonas.*

Kugelige Microorganismen von verschiedener Größe mit wenig protoplasmatischer Veränderlichkeit des Körpers. Nahrungsaufnahme

teils durch Endosmose teils nach Art der Amöben. Keine contractilen Vacuolen.

1. *Sphaeromonas communis.*

Die Reihenfolge der Species wähle ich nach der Häufigkeit ihres Auftretens im Pansen. —

Die Gestalt dieser Flagellaten ist die einer Kugel. Sie sind protoplasmatisch veränderlich, die veränderte Gestalt bleibt aber nur einen Moment bestehen. um dann sofort wieder zur Kugelform zurückzukehren.

Sie sind sehr zahlreich im Panseninhalt der Wiederkäuer vertreten, sie gehören zu den häufigsten Flagellaten. Man findet sie im Pansen eines jeden Wiederkäuers.

Die Größe beträgt 7—10 μ. Bei der Mehrzahl beträgt der Durchmesser 7 μ, zuweilen kommen auch solche von 6 μ Größe vor.

Das Protoplasma dieser Flagellaten ist farblos, es hat zuweilen höchstens die blaßgrünliche Farbe der chlorophyllhaltigen Pansenflüssigkeit angenommen. Das Protoplasma ist körnig; die Körner sind teils größer, teils kleiner, sie gehen bis an den Rand des Flagellats, so daß von einer Scheidung in Ecto- und Entoplasma keine Rede sein kann. Die Körner sind auch beweglich. Diese Bewegung ist aber keine geordnete, regelmäßige, die Körner bewegen sich wirr durcheinander. Contractile Vacuolen sind nicht vorhanden. Hin und wieder ist der Kern auch im Leben zu erkennen als blaßgelblicher Fleck. er ist stärker lichtbrechend als seine Umgebung. Er ist nicht an jedem Individuum zu sehen, oft tritt er dagegen sehr deutlich hervor. Um den Kern herum sind manchmal größere Körner zu sehen, während das übrige Protoplasma eine feine Körnelung zeigt. Die fixierten und gefärbten Flagellaten zeigen einen Kern, an welchem eine deutliche Kernmembran, ein heller gefärbtes Kernplasma und dunkler gefärbte Körner, Chromatinkörner, zu sehen sind.

Die Flagellaten sind widerstandsfähiger als die Infusorien. Bei 40—41 ° C habe ich über Nacht Panseninhalt stehen lassen. früh waren die Infusorien tot, die Flagellaten dagegen lebten noch. Setzt man Pansenflüssigkeit in den Brutofen bei 35—37 ° C., so halten die Flagellaten 1—5 Tage aus ohne abzusterben, nachdem die Infusorien längst zu Grunde gegangen sind.

Die Bewegungen der *Sphaeromonas communis* sind zweierlei Art, sie bestehen:

1. in einer lokomotorischen Bewegung,
2. in einer Bewegung auf ein und derselben Stelle.

Die Flagellaten schwimmen mit dem Vorderteil des Körpers voran. Die Vorwärtsbewegung ist zitternd, eine oscillierende Bewegnng, ein Hin- und Herschwanken. Bleibt das Flagellat auf einer Stelle liegen, so sieht man zuweilen, daß in der Mitte des Vorderkörpers ein kleiner Protoplasmafortsatz, Mundfortsatz, ausgestoßen, wieder eingezogen, dann ausgestoßen und wieder eingezogen wird. Dieses Spiel wiederholt sich fortwährend. Für gewöhnlich sieht man den Mundfortsatz nicht. Die Flagellaten stoßen ihn aus, wenn das Wasser auf dem Objektträger verdunstet, wenn Sauerstoffmangel vorhanden ist. Auch durch andere Ursachen wird die Ausstoßung des Mundfortsatzes bei der *Sphaeromonas communis* zuweilen erreicht z. B. durch mechanische Reize, durch Klopfen auf den Objektträger. Der Mundfortsatz wird auch ausgestoßen, wenn das Tier schwach geworden ist. Zuweilen sieht man, daß $^3/_4$ des hinteren Protoplasmakörpers unseres Flagellats ruhig daliegt, das Vorderviertel sich dagegen bewegt. Ein Protoplasmafortsatz wird ausgestoßen, welcher eine kreisförmige Bewegung im entgegengesetzten Sinne des Uhrzeigers macht. Auf der rechten Seite wird ein Fortsatz ausgestoßen. Er ist jedoch ganz klein, rückt auf die Mitte des Vorderkörpers zu, indem er dabei größer und größer wird, bis er sich in der Mitte des Tieres befindet, wo er seine größte Ausdehnung erreicht hat. Jetzt rückt er auf die linke Seite des Körpers. Dabei wird er immer kleiner, bis er schließlich völlig verschwindet. Kurz darauf wird wieder auf der rechten Seite ein Protoplasmafortsatz ausgestoßen; das Spiel von vorhin wiederholt sich fortwährend mit regelmäßiger, geringer Geschwindigkeit. Diese protoplasmatischen Bewegungen habe ich hin und wieder gesehen, wenn Wasser- und damit Sauerstoffmangel aufgetreten war. Die Flagellaten drehen sich um ihre eigene Achse mit großer Geschwindigkeit im Kreise nach links, halten plötzlich inne und drehen sich jetzt ebenso schnell im Kreise nach rechts auf ein und derselben Stelle. Sie halten zuweilen einen Augenblick in der Bewegung inne. Wird das Wasser durch ein in der Nähe befindliches Infusor bewegt, so beginnt sofort wieder die kreisförmige Bewegung, was ich oft habe konstatieren können. Wenn sich die Tiere in entgegengesetzter Richtung des Uhrzeigers mit größter Geschwindigkeit um ihre eigene Achse auf einer Stelle drehen, so ist das der Regel nach ein Zeichen des nahen Todes. Die Bewegungen werden dann immer schwächer, bis sie schließlich ganz aufhören. Die Flagellaten fallen den Infusorien. besonders den

gefräßigen Diplodinien und Entodinien zum Opfer. In manchen Panseninhalten findet man viele Infusorien und viele Flagellaten; wo aber sehr viel Infusorien vorhanden sind, sind wenig Flagellaten, weil sie von ihren Feinden vertilgt werden.

Die Nahrungsaufnahme geschieht der Regel nach durch Endosmose, zuweilen kann man aber auch beobachten, daß die *Sphaeromonas communis* sich an ein kleines Nahrungskörnchen legt; zwei kleine protoplasmatische Arme werden ausgestoßen, welche sich um das Körnchen legen und ineinander fließen. Jetzt zieht sich das Protoplasma zusammen und bringt das Körnchen ins Körperinnere. Auf ähnliche Weise werden die Exkretkörner wieder aus dem Körper entfernt. Man sieht, wie das Körnchen an den Rand der Kugel gedrängt wird, wie das Protoplasma einen Fortsatz bildet, in welchem sich das Körnchen befindet, und plötzlich sieht man, wie der Fortsatz sich wieder zusammenzieht und das Körnchen außerhalb des Protoplasmas läßt. Auch Bakterien werden auf diese Weise zuweilen gefressen.

Die *Sphaeromonas communis* hat eine Geißel. Diese ist kräftig, in der Regel nach hinten gerichtet. Eine solche Geißel heißt „Schleppgeißel (18)". Die Geißel ist gewöhnlich 2—3 mal so lang als der Körper, es kommt aber auch vor, daß sie 3—4 mal so lang ist. Sie ist etwas seitlich von der Mitte des Vorderkörpers inseriert, also neben dem Mundfortsatz, wenn ein solcher ausgestoßen wird. Die Geißel ist in der Peripherie des Protoplasmas befestigt, einem Teil, welcher dem Ectoplasma der Infusorien gleicht. Setzt man eine Salzlösung hinzu, so schrumpft das Ectoplasma und läßt die Verbindung der Geißel mit demselben erkennen. Man sieht ein protoplasmatisches Klümpchen, in welches sich die Geißel aufgelöst hat. Dieses Protoplasma ist viel dichter als das seiner Umgebung, es färbt sich auch viel intensiver als das übrige Protoplasma.

Die Bewegungen der Geißel sind mannigfaltig. Liegt das Flagellat ruhig auf einer Stelle, so bewegt sich die Geißel und beschreibt die Form eines Kegelmantels. Zuweilen macht die Geißel auch in ihrer ganzen Länge eine drehende Bewegung mit großer Geschwindigkeit in entgegengesetztem Sinne des Uhrzeigers, so daß das Aussehen einer Parabel entsteht. Die Spitze und den Insertionspunkt der Geißel müssen wir uns dabei fixiert denken. Der Körper des Flagellats ist aber nicht fixiert, er wird daher im Kreise mitgerissen. Die Geißel dreht sich in der angegebenen Weise äußerst schnell. Das weniger geübte Auge sieht daher zwei gekrümmte Linien, welche vom Insertionspunkt der Geißel am Flagellat aus-

gehen und die stärkste Krümmung derselben auf der rechten und linken Seite darstellen. Der Laie glaubt daher 2 Geißeln zu sehen, während in Wahrheit nur eine vorhanden ist. CERTES (4) scheint das auch gesehen zu haben, indem er diese Erscheinung für 2 Geißeln hält, welche von einem Punkt ausgehen. Die Geißel macht auch eine schlängelnde oder schraubenförmige Bewegung, wodurch der Körper vorwärts getrieben wird. Bei heftiger Bewegung der Geißel sieht man das Protoplasmaklümpchen, die Einpflanzungsstelle der Geißel, sich vom übrigen Protoplasma deutlich abheben. Läßt man das Wasser auf dem Objektträger langsam eintrocknen, so sieht man, wie sich die Geißel aufrollt und als kleines farbloses Bläschen neben der Mitte des Vorderkörpers des Flagellats sitzen bleibt. Die Geißel wird auch abgeworfen. Dann wird die Einpflanzungsstelle derselben, das Protoplasmaklümpchen, stets mitgenommen. Die Geißel ist, wenn sie abgeworfen worden ist, nicht etwa gleich tot, sie macht jetzt noch heftige Bewegungen, welche schraubenförmig sind; dabei kommt eine zuweilen sehr schnelle Vorwärtsbewegung zu Stande oder sie macht schlängelnde und zugleich mit der Vorderhälfte peitschenförmige Bewegungen nach rechts und links. Gewöhnlich bewegt sich nur der vordere Teil der Geißel, während der Teil in der Nähe der Ansatzstelle unbeweglich erscheint. Die Bewegung der Geißel ist gleich nach dem Abwerfen viel heftiger als sie vorher war, weil das Gewicht des Flagellats nicht mehr daran hängt. Die Bewegung wird aber allmählich langsamer, die Intensität wird immer schwächer, bis sie schließlich ganz ruhig daliegt, abgestorben ist.

Bei allen lebenden Flagellaten erscheint die Spitze der Geißel verjüngt, während sie doch in Wahrheit in ihrer ganzen Länge eine gleichmäßige Dicke besitzt. Das ist schon zu sehen, wenn man eine schwache Jodlösung zur Untersuchungsflüssigkeit setzt. Die Flagellaten und damit auch die Geißeln werden langsam abgetötet, sie erscheinen jetzt ihrer ganzen Ausdehnung nach gleichmäßig dick von der Basis bis zur Spitze. Dasselbe Resultat erhält man, wenn man einen kleinen Tropfen Pansenflüssigkeit eintrocknen läßt und gleich darauf mit Fuchsin färbt. Am klarsten sieht man es aber nach der TAVEL'schen Geißelfärbung.

Woher kommt es nun, daß die Geißel während des Lebens an der Spitze verjüngt erscheint?

Alle älteren Beobachter zeichnen die Geißel auch an der Spitze dünner. Die Spitze der Geißel ist am meisten beweglich, sie geht teils in die Tiefe, teils in die Höhe in der Flüssigkeit unter dem



Deckgläschen. Die Spitze der Geißel ist also stets ungleich weit vom Auge entfernt. Auch noch ein Moment kommt hier in Betracht. Der Zeitraum, in welchem die Spitze der Geißel vom Auge fixiert wird, ist zu kurz, um auf der Retina ein klares Bild zu erzeugen, wir sehen daher ein verschwommenes. Es liegt hier eine optische Täuschung vor, welche auf demselben Prinzip beruhen dürfte wie das Stroboscop. Der Vorgang ist in der Physiologie von MUNK (19) im Kapitel „Verlauf der Netzhauterregung“ ausführlich dargestellt.

Die Geißeln der Flagellaten lösen sich vom Tierkörper stets in ihrer ganzen Ausdehnung ab, nicht in Stücken, und zwar wird stets die Anheftungsstelle im Protoplasma mit ausgestoßen. Bei der Präparation werden manchmal fast alle Geißeln abgeworfen und trocknen auf verschiedenen Stadien des Absterbens ein, oder man sieht nur wenige Tiere mit Geißeln, oder alle Tiere sind im Besitz von solchen. Die Geißel erscheint, wie schon erwähnt, nach der Geißelfärbung von TAVEL gleichmäßig dick mit der schon während des Lebens erkennbaren Verdickung an der Basis, welche aus verdichtetem peripherischen Protoplasma besteht.

Die Geißeln haben eine verschiedene Dicke, je nachdem sie eine kürzere oder längere Zeit gebeizt worden sind. Die Länge der Geißel ist nicht immer konstant. Bei manchen sah ich, daß ihre Länge mit der des Körpers übereinstimmte. Etwas derartiges habe ich an lebenden Flagellaten niemals gesehen. Hier betrug die Länge mindestens das Doppelte der Körperlänge. Man muß daher annehmen, daß ein Stück der Geißel bei der Präparation abgebrochen oder zugrunde gegangen sei. Quellen können nur lebendige Geißeln, tote nicht mehr. Erfolgt die Quellung nicht gleichmäßig der ganzen Länge der Geißel nach, sondern beginnt sie an einem Ende, so schreitet sie allmählich die Geißel entlang, welche in einem solchen Zustande eintrocknet. So wird der Regel nach nur der nicht gequollene Teil der Geißel gefärbt, es bleibt also ein Bruchstück übrig (10). Läßt man einen großen Tropfen frischer Pansenflüssigkeit mit lebenden, stark beweglichen Flagellaten langsam eintrocknen und beizt dann, so kann man sehen, wie sich die Geißeln uhrfederartig eingerollt haben. Diese Uhrfedern können entweder am Flagellat sitzen bleiben oder auch abgeworfen werden.

Ich habe für die *Sphaeromonas communis* die Geißel-, Kern- und physiologischen Verhältnisse der Nahrungsaufnahme und Bewegung eingehend geschildert. Ich werde mich daher bei den folgenden Flagellaten, bei denen die Erscheinungen im allgemeinen dieselben sind, kurz fassen resp. nicht mehr erwähnen.

Die Fortpflanzung geschieht durch Längsteilung im beweglichen Zustande.

Man sieht zuweilen schwarzbraune Kapseln, welche am Rande etwas heller braun sind. Man kann aber sonst keine nähere Struktur erkennen. Neben diesen Kapseln kommen glasartig durchsichtige vor von 7—8 μ Größe. Sie enthalten eine Anzahl runder bis ovaler Gebilde von 1 μ Größe. In demselben Panseninhalt kommen 1—2 μ große, kugelige Flagellaten vor, welche eine Geißel von doppelter Körperlänge haben, die sich schlängelt. Das Rind hat einige Stunden vor seinem Tode Heu zu fressen bekommen. Ich halte es für möglich, daß die kleinen Flagellaten mit der Kapsel und ihren Sporen in Verbindung stehen. Das kann freilich erst später endgültig festgestellt werden, wenn man Nährböden gefunden haben wird, mit deren Hilfe man Reinkulturen wird anlegen können.

2. *Sphaeromonas minima.*

Die Gestalt ist kugelförmig, nur wenig protoplasmatisch veränderlich. Die Größe schwankt zwischen 3—4 μ. Diese Flagellaten sind sehr häufig und zahlreich und kommen in dem Panseninhalt jedes Wiederkäuers vor. Sie sind äußerst widerstandsfähig, sie übertreffen darin noch die *Sphaeromonas communis.* Sie sterben im Brutofen in der Pansenflüssigkeit erst zuletzt ab. Daß diese kleinen Lebewesen so zahlreich vorkommen, muß seinen Grund zum Teil darin haben, daß die Diplodinien und Entodinien die großen Flagellaten besser fangen können, während sie über die kleinen hinfortgleiten. Der Kern liegt in der Mitte des Körpers, er ist im Vergleich zu der geringen Größe dieses Flagellats groß. Man kann an ihm eine Kernmembran, Kernsaft und Chromatinkörner unterscheiden, letztere sind besonders dunkel gefärbt bei der Färbung mit Boraxkarmin. Mit den stärksten Vergrößerungen kann man auch hier schon während des Lebens den Kern als blaßgelblichen Fleck erkennen. In manchen Tieren sieht man zuweilen auch 2 Kerne, welche durch Teilung entstanden sind, bei denen aber die Teilung des Protoplasmas nicht vor sich gegangen ist. Auch hier kann man hin und wieder eine feine Körnelung erkennen, sie tritt häufiger hervor, wenn wenig oder gar keine Infusorien in dem Panseninhalt vorkommen. Das wird wohl nur eine zufällige Erscheinung sein. Contractile Vacuolen sind nicht vorhanden. Die Flagellaten bewegen sich teils auf der Stelle um ihre eigene Achse, teils schwimmen sie oscillierend vorwärts mit einer im Vergleich zu ihrer Kleinheit großen Geschwindigkeit.

Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose.

Die Geißel ist neben dem protoplasmatischen Mundfortsatz, welcher zuweilen zu sehen ist, inseriert und zwar im Ectoplasma, wie ich die periphere Partie des Protoplasmas der Einfachheit halber von jetzt ab nennen will. Die Geißel erscheint lebend an der Spitze verjüngt, dagegen sieht man nach der Präparation, daß sie in allen Teilen gleichmäßig dick ist. Sie ist doppelt so lang als der Körper. Sie funktioniert hier weniger als Schleppgeißel im Gegensatz zur *Sphaeromonas communis*. Sie kann sich auch uhrfederartig aufrollen, so daß neben der vorderen Körpermitte ein farbloses Bläschen zu sehen ist.

Die Fortpflanzung geschieht durch Längsteilung. Richten kann man sich bei dieser Beobachtung stets nach der Geißel. Die Teilung findet im beweglichen Zustande statt.

3. *Sphaeromonas maxima*.

Diese Flagellaten haben wieder die Kugelgestalt, welche nur wenig protoplasmatisch veränderlich ist. Die Größe beträgt 12—14 μ. Sie kommen in dem Panseninhalt jedes Wiederkäuers vor, wenn sie auch an Zahl gegenüber den beiden vorhergenannten Flagellaten sehr zurückstehen.

Der Kern ist gewöhnlich am Vorderende des Körpers, er kommt aber auch in der Mitte vor. Er ist schon im Leben recht deutlich als großer, runder, blaßgelber Fleck zu erkennen. Das Protoplasma ist gekörnt, es hat große und kleine Körner. Manchmal sind die großen Körner mehr um den Kern gestellt, das andere Mal mehr gegen die Peripherie des Protoplasmaleibes oder sie sind gleichmäßig in der Protoplasmakugel verteilt. Das Protoplasma ist farblos, es zeigt keine contractilen Vacuolen. Diese Flagellaten sind nicht sehr widerstandsfähig gegen äußere schädliche Einflüsse, ihre Widerstandskraft tritt im Vergleich zu derjenigen der *Sphaeromonas communis* und *S. minima* stark in den Hintergrund. Bei Zimmertemperatur z. B. gehen sie schnell zugrunde. Die Fortbewegung ist träge, die Vorwärtsbewegung zitternd; man sieht sie gewöhnlich auf einer Stelle liegen und Bewegungen ausführen.

Die Nahrungsaufnahme geschieht gewöhnlich durch Endosmose, auch aktiv wird die Nahrung aufgenommen, wenn auch selten.

Die Geißel ist 2,5 mal so lang als der Körper, sie ist sehr kräftig, sie erscheint an der Spitze wieder verjüngt aus dem schon früher angeführten Grunde. Die Insertion ist neben der Mitte des Vorderkörpers in dem Teil des Protoplasmas, das als Ectoplasma bei

Amöben und Infusorien funktioniert. Die gefärbten Geißeln zeigen in ihrer ganzen Ausdehnung eine gleichmäßige Dicke. Sie schlagen sich um das Flagellat nach hinten herum und führen die verschiedensten Bewegungen aus, wie sie schon beschrieben worden sind.

Eine einwandsfreie Teilung im beweglichen Zustande habe ich nicht beobachtet.

II. Gattung: *Oikomonas.*

Zu dieser Gattung gehören eiförmige Flagellaten von verschiedener Größe mit protoplasmatischer Veränderlichkeit des Körpers. Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose. Keine contractilen Vacuolen.

1. *Oikomonas communis.*

Die Gestalt dieser Flagellaten ist nicht einheitlich; es gibt Formen, welche oval sind, d. h., bei denen die Basis breit ist und der Körper in einen stumpfen Kegel, sein Hinterende, ausgeht, also eiförmig ist. Dann kommen Formen vor, welche in der Mitte am dicksten sind und sich nach beiden Enden zu allmählich verschmälern, schließlich solche, welche ihrer ganzen Länge nach gleichmäßig dick und an den äußersten Enden abgerundet sind. Der Körper derselben erscheint in die Länge gezogen und schmal. Sie sind sehr zahlreich in der Haube und dem Pansen der Wiederkäuer vertreten. Die Größe der langen und schmalen Form beträgt 11 μ, die Breite 3—4 μ. Die Länge der eiförmigen beträgt 7—8 μ, der größte Querdurchmesser 3—4 μ.

Der rundliche Kern ist häufig schon im Leben als blaßgelber Fleck zu erkennen, er liegt teils im Vorderkörper, teils in der Mitte, zuweilen auch im Hinterkörper. Das Protoplasma ist farblos, Körnelung desselben in der Regel vorhanden. Zuweilen ist sie jedoch nicht zu sehen. Vacuolen kommen nicht vor. Diese Oikomonaden schwimmen schnell vorwärts, mit dem Vorderteil des Körpers voran, es ist stets an der Insertion der Geißel zu erkennen. Die Bewegung ist zitternd. Der Hinterkörper kann sich in eine Art Schwanz ausziehen, um jedoch schnell wieder zu seiner früheren Gestalt zurückzukehren. Diese Flagellaten schlagen mit dem Hinterkörper, welcher amöboid beweglich ist, von rechts nach links, machen den Körper zu einem Fragezeigen oder krümmen sich kommaartig zusammen. Auf diese Weise kommt eine schnelle Vorwärtsbewegung zustande.

Sie drehen sich dabei auch schnell um ihre Längsachse, in umgekehrtem Sinne des Uhrzeigers, sie halten plötzlich inne und drehen sich jetzt mit derselben Geschwindigkeit in entgegengesetzter Richtung. Auch Drehungen um die Querachse werden beobachtet. Sie verändern dabei ein wenig ihre Gestalt, sie gehen z. B. in die Kugelform über, kommen aber nach der Bewegung wieder in ihre ursprüngliche Gestalt zurück. Werden die Flagellaten gereizt, z. B. durch Wasser, welches von einem Infusor bewegt wird, so wird die beschriebene Bewegung äußerst heftig. Ist diese dagegen schwach, wird sie immer schwächer, so ist daran der langsam eintretende Tod des Individuums zu erkennen.

Die Nahrungsaufnahme geschieht der Regel nach durch Endosmose, selten amöboid.

Die Geißel ist kräftig, doppelt so lang als der Körper, in ihrer ganzen Länge gleichmäßig dick. Sie ist neben der Mitte des Vorderkörpers im peripherischen Teil des Protoplasmas inseriert.

Die Fortpflanzung geschieht durch Längsteilung im beweglichen Zustande.

2. *Oikomonas minima.*

Die Gestalt ist eiförmig, protoplasmatisch veränderlich. Der Hinterkörper zieht sich zuweilen in einen kleinen Schwanz aus, der aber schnell wieder eingezogen wird.

Die Länge beträgt 4 μ, der größte Querdurchmesser 3 μ. Sie sind auch zahlreich in der Haube und dem Pansen der Wiederkäuer vertreten.

Der Kern ist zuweilen als gelblicher Fleck während des Lebens zu erkennen. Er ist im Verhältnis zum Gesamtkörper groß; das Protoplasma ist farblos und zeigt eine feine Körnelung, aber keine contractilen Vacuolen. Die kleinen Lebewesen drehen sich um die Längs- und Querachse. Die Vorwärtsbewegung ist oscillierend und verhältnismäßig rapid.

Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose. Die Geißel ist verhältnismäßig kräftig, neben der Mitte des Körpers in der Peripherie des Protoplasmas inseriert, „nicht“ am Rande des Flagellats. Die Geißel macht schlängelnde Bewegungen, der Vorderkörper wird dabei zuweilen fixiert, so daß sich nur der Hinterkörper auf der Stelle bewegt. Die Geißel ist ungefähr doppelt so lang wie der Körper.

Fortpflanzung durch Längsteilung.

III. Gattung: *Cercomonas.*

In einen Schwanzfortsatz auslaufende kleine Lebewesen von verschiedener Größe; die Nahrungsaufnahme erfolgt teils tierisch, teils durch Endosmose; keine contractilen Vacuolen.

1. *Cercomonas rhizoïdea communis.*

Diese Flagellaten sind durch ihren Schwanz charakterisiert. Der gewöhnlich kräftig entwickelte Vorderkörper verschmälert sich stark und geht in einen das eine Mal hinten abgerundeten, das andere Mal scharf zugespitzten Schwanz aus. Dieser kann mancherlei Verschiedenheiten zeigen. Er kann dick und lang sein oder dick und kurz oder lang und am Ende zugespitzt. Von der Gestalt der Cercomonaden können wir uns ein ungefähres Bild machen, wenn wir an die Zuckerrüben, Rettiche oder Wasserrüben denken. Die *Cercomonas rhizoïdeae communis* sind im Panseninhalt der Wiederkäuer sehr zahlreich. Der Längsdurchmesser beträgt 7—10 μ, der größte Breitendurchmesser 3—4 μ. Der Kern ist rund, er stellt einen blaßgelblichen Fleck in dem verbreiterten Vorderkörper während des Lebens dar. Das Protoplasma ist farblos und weist Körnelung auf. Die kleinen Lebewesen schwimmen mit dem Vorderteil stets voran. Die Bewegung ist sehr schnell, sie wird nicht nur durch die Geißel, welche in der Regel nachschleppt, sondern auch durch die Beweglichkeit des Schwanzes hervorgerufen. Dieser macht teils schlängelnde, regenwurmförmige, teils schlagende, kommaartige Bewegungen nach rechts und links, der Körper schwankt dabei hin und her; es ist also eine zitternde Bewegung. Zuweilen sieht man aber auch eine amöboide Bewegung des Vorderkörpers; die Protoplasmafortsätze sind teils klein teils groß, je nach der Bewegung. Man beobachtet zuweilen auch, daß in der Mitte des Vorderkörpers ein kleiner, protoplasmatischer Mundfortsatz ausgestoßen und wieder eingezogen wird. Die Bewegung auf der Stelle ist eine Drehung um die Quer- und Längsachse. Der Protoplasmakörper ist farblos, gekörnt und weist keine Vacuolen auf.

Die Nahrungsaufnahme geschieht teils durch Endosmose teils tierisch, indem sich das Flagellat an einen Nahrungskörper legt, ihn mit zwei einander entgegenwachsenden Protoplasmaarmen umgibt und in seinen Leib hineinzieht.

Die Geißel ist kräftig, doppelt so lang als der Körper; sie funktioniert gewöhnlich als Schleppgeißel. Neben der Mitte des Vorder-

körpers, also neben dem Mundfortsatz in der Peripherie des Protoplasmas ist sie inseriert, wie es auch bei allen schon aufgezählten Flagellaten der Fall war. Auf alle Einzelheiten und Feinheiten will ich hier nicht weiter eingehen; ich beziehe mich auf das, was ich im allgemeinen für *Sphaeromonas communis* gesagt habe.

Die Forpflanzung geschieht durch Längsteilung.

2. *Cercomonas rhizoïdea minima.*

Der Körper verschmälert sich stark und geht in einen Schwanz aus. Hier sind ganz ähnliche Verhältnisse wie bei *Cercomonas rhizoïdea communis*, weshalb ich mich hier ganz kurz halten kann. Der Längsdurchmesser beträgt 4—6 μ, der größte Breitendurchmesser 2 μ. Diese kleinen Flagellaten sind sehr zahlreich im Panseninhalt der Wiederkäuer vorhanden. Das Protoplasma ist farblos; wenn man die Körnelung erkennen kann, so sind die Körner ganz fein. Der Kern ist rund. In Dauerpräparaten kann man eine Kernmembran, ein Kernplasma und dunklergefärbte Chromatinkörner erkennen. Während des Lebens ist der Kern zuweilen auch als blaßgelblicher runder Fleck zu sehen. Keine contractile Vacuole ist vorhanden. Die Bewegung stellt eine rasche Vorwärtsbewegung des Lebewesens dar, welche oscillierend ist. Diese kleinen Flagellaten können sich aber auch auf der Stelle um ihre eigene Achse drehen. Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose. Die Geißel ist kräftig, von doppelter Körperlänge und in ihrer ganzen Ausdehnung von gleicher Dicke. Sie ist neben der Mitte des Vorderkörpers in der Peripherie des Protoplasmas inseriert.

Fortpflanzung habe ich nicht beobachtet.

3. *Cercomonas rhizoïdea maxima.*

Diese Species kommt im Pansen und der Haube der Wiederkäuer regelmäßig vor, die Zahl tritt aber gegenüber den beiden vorher erwähnten Species stark zurück. Man muß den Panseninhalt schon mit größerer Sorgfalt durchsuchen, will man sie finden. Auch sie sind durch ihren Schwanz gekennzeichnet. Der abgerundete Vorderkörper schnürt sich auch hier stark ein, so daß der Hinterkörper in einen Schwanz ausläuft. Dieser kann sein ein dicker und langer Schwanz, ein kurzer und dicker und ein langer und dünner. Ist der Schwanz stärker entwickelt, so ist der Vorderkörper kleiner, ist der Schwanz dagegen klein, so ist der Vorderkörper der Regel nach mächtig entwickelt. Der Längsdurchmesser beträgt 14—19 μ, der größte Breitendurchmesser ca. 7 μ.

Der Kern erscheint als deutlicher runder blaßgelblicher Fleck im Vorderkörper. Die Cercomonade ist in geringem Grade protoplasmatish veränderlich. Das Protoplasma ist grobkörnig, die Verteilung der Körner wie bei den schon früher erwähnten Flagellaten. Das Protoplasma ist farblos. Das Lebewesen zeigt eine Vorwärtsbewegung, welche aber träge zu nennen ist, wenn man die rapide Vorwärtsbewegung der beiden vorher genannten Flagellaten ins Auge faßt.

Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose, ist zuweilen auch amöboid. Die Geißel ist kräftig, sie erscheint während des Lebens an der Spitze verjüngt. In Dauerpräparaten zeigt sie aber eine gleichmäßige Dicke. Alle Einzelheiten sind dieselben wie bei *Sphaeromonas communis*. Die Geißel ist in der Peripherie des Protoplasmas inseriert, nicht etwa am Rande des Flagellats. Die Insertionsstelle ist neben der Mitte des Vorderkörpers, also neben dem Mundfortsatz, wenn er ausgestoßen wird. Die Geißel ist doppelt so lang als der Körper, sie funktioniert der Regel nach als Schleppgeißel.

Eine Fortpflanzung habe ich nicht beobachtet.

IV. Gattung: *Piromonas*.

Flagellaten dieser Gattung sind durch ihre typische birnförmige Gestalt charakteristisch. Die Größe dieser Lebewesen ist verschieden. Keine contractile Vacuole.

1. *Piromonas communis*.

Die Gestalt ist birnförmig; der Vorderkörper ist abgerundet und schmal wie der schmale Teil der Tafelbirne, der Hinterkörper erweitert sich plötzlich bauchig wie auch bei dieser. Diese Species ist in großer Anzahl im Panseninhalt der Wiederkäuer vertreten. Der Längsdurchmesser beträgt 8 μ.

Das Protoplasma ist farblos und gekrönt, enthält keine contractilen Vacuolen. Man sieht auch hier größere und kleinere Körner. Der Kern erscheint schon während des Lebens als blaßgelblicher, runder Fleck, welcher sich im Vorderteil oder in der Mitte des Gesamtkörpers befindet. Der Körper ist nicht starr, sondern protoplasmatisch, wenn auch wenig, veränderlich. Die Vorwärtsbewegung ist zitternd, die Bewegung auf der Stelle wie bei den früheren.

Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose.

Die Geißel ist doppelt so lang als der Körper, sie ist kräftig; sie erscheint an lebenden Flagellaten an der Spitze verjüngt, sie ist

aber in Wahrheit in ihrer ganzen Ausdehnung gleichmäßig dick. Sie entspringt ungefähr in der Mitte des verschmälerten Teils des birnförmigen Körpers. Die Geißel ist nach hinten gerichtet. Schwimmt die *Piromonas communis*, so bewegt sie sich mit dem Vorderkörper voran. Dieser ist am Ansatzpunkt der Geißel sofort zu erkennen. Es ist also der verjüngte Teil des birnförmigen Körpers.

Teilung habe ich nicht beobachtet.

2. *Piromonas minima.*

Hier ist die typische Birnform nicht mehr so deutlich zu erkennen, hier ist der Vorderkörper in eine stumpfe Spitze ausgezogen. Der Längsdurchmesser beträgt 4 μ. Sie kommen in dem Pansen und der Haube der Wiederkäuer vor.

Der Kern ist in der Mitte des Körpers gelegen, er ist sehr groß. Das Protoplasma ist farblos, Körnelung ist nicht zu erkennen. Die Vorwärtsbewegung ist zitternd. Keine contractilen Vacuolen sind vorhanden. Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose. Die Geißel ist an dem spitzen Vorderkörper in der Peripherie des Protoplasmas inseriert.

Teilung habe ich nicht wahrgenommen.

3. *Piromonas maxima.*

Der Körper hat die Form einer Tafelbirne. Das Hinterteil des Körpers ist bauchig, es verschmälert sich ungefähr zwischen dem 1. und 2. Drittel des Körpers stark und geht in das schmale, abgerundete, längliche Vorderende des Körpers über. Der Längsdurchmesser beträgt 14—18 μ, der größte Querdurchmesser, also der des bauchigen Hinterkörpers 8—11 μ, der größte Querdurchmesser des verschmälerten Vorderkörpers 4 μ.

Diese Flagellaten kommen in jedem Panseninhalt vor, wenn auch die Zahl gegenüber den anderen Flagellaten in den Hintergrund gedrängt wird.

Das Protoplasma ist farblos, starke Körnelung ist nachzuweisen, man sieht große Körner, welche sich bis an den Rand der Piromonade erstrecken und regellos im Protoplasmaleib verstreut sind. Der Kern ist als großer, runder, blaßgelber Fleck auf der Grenze zwischen dem ersten und zweiten Drittel des Körpers oder im Hinterkörper zu erkennen. Eine contractile Vacuole ist nicht vorhanden. Die Vorwärtsbewegung der *Piromonas maxima* ist verhältnismäßig träge. Auf der Stelle wird das Flagellat von der Geißel bewegt.

Die Nahrungsaufnahme geschieht durch Endosmose; tierische Aufnahme der Nahrung habe ich nicht gesehen. Die Geißel ist sehr kräftig, sie geht nach hinten, funktioniert also als Schleppgeißel. Sie erscheint wieder an der Spitze verjüngt, was aber auf Täuschung beruht. Die Insertionsstelle der Geißel in der Peripherie des Protoplasmas ist schon während des Lebens gut zu erkennen. Weil die Piromonade schwer ist, muß die Geißel stärkere Bewegungen machen, um den Körper in Bewegung zu setzen. Die Verbindung zwischen der Geißel und dem Protoplasma kommt dadurch zum Vorschein, man sieht ein dunkleres Protoplasmaklümpchen, welches der Peripherie des Flagellatenkörpers angehört und sich von der Umgebung abhebt. Die Geißel löst sich in diesem dichten Protoplasma auf. Sie kann nun nach oben in der Mitte des verschmälerten Vorderkörpers heraustreten oder seitlich auf der Grenze zwischen dem 1. und 2. Drittel des Körpers. Sie geht dann in großem kreisförmigem Bogen nach hinten. Häufig tritt bei der Bewegung der *Piromonas maxima* eine Biegung des Körpers ein auf der Grenze zwischen dem 1. und 2. Drittel des Körpers, man sieht dann an Stelle der geschwungenen Linien des birnförmigen Körpers auf einer Seite einen scharfen Ausschnitt. Die *Piromonas maxima* hat eine kommaartige Krümmung angenommen, wenn ich mich so ausdrücken darf. Dieses Bild ist auch bei der *Piromonas communis* häufig zu sehen.

Teilung habe ich nicht wahrgenommen.

Übersichtliche Zusammenstellung der Körpermaße der beschriebenen Fragellaten.

Da bei der Bestimmung der lebenden Flagellaten die Kenntnis der Körpermaße von Bedeutung ist, so füge ich eine vergleichende

Exemplar	Länge des Körpers in μ	Breite des Körpers in μ
Sphaeromonas communis	7—10	
„ *minima*	3—4	
„ *maxima*	12—14	
Oikomonas communis	11	3—4
„ „	7—8	3—4
„ *minima*	4	3
Cercomonas rhizoidea communis	7—10	3—4
„ „ *minima*	4—6	2
„ „ *maxima*	14—19	7
Piromonas communis	8	
„ *minima*	4	
„ *maxima*	14—18	4 obere Breite 8—11 untere Breite

Übersicht der erhaltenen Maße bei. Die angegebenen Maße stellen nur die Mittelzahlen dar, da die Körpermaße der Flagellaten Schwankungen unterliegen, welche z. B. während der Entwicklung auftreten.

Die saprophytischen Flagellaten, *Cercomonas termo* Stein.

Ich schließe hier eine kurze und oberflächliche Betrachtung über die von Stein (13) gefundenen Saprophyten, *Cercomonas termo* an, welche von Bütschli (15) in 2 Gattungen, *Cercomonas* und *Oikomonas*, von Eyferth (18) in *Cercomonas* und *Oikomonas*, diese Gattung mit den Species *Oikomonas termo* Ehrenberg (20) und *Oi. mutabilis* Schoenichen und Kalberlah (18) geteilt sind. Ich tue es darum, weil ich der Ansicht bin, daß die von mir beschriebenen Flagellaten sich von den *Cercomonas termo* Stein ableiten oder besser gesagt durch Anpassung allmählich Parasiten geworden sind.

Die Flagellaten, welche zu *Cercomonas* Stein gehören, haben verschiedenerlei Gestalt. Man sieht 1. die Kugel-, 2. die Ei-, 3. die geschwänzte Form. Stein zeichnet noch eine Form, welche vorn zugespitzt, hinten dagegen breit erscheint. Diese habe ich nicht gesehen, sie wäre aber meiner *Piromonas maxima* ähnlich. Die kleinen Lebewesen haben drei verschiedene konstante Größen: 4, 7 und 14 μ. Die runden und ovalen oder eiförmigen habe ich in den Heuinfusen angetroffen, runde, ovale und schwanzartige dagegen in schmutzigen Tümpeln mit faulenden Gräsern und Blättern.

Fam. *Amoebina.*

Genus *Amoeba.*

Species *Amoeba bovis.*

Die Beschreibung der Amöbe resp. Mastigamöbe schließe ich erst hier an, obwohl sie nach dem System vor die Cercomonaden gestellt werden müßte. Ich tue es jedoch darum, weil sie keine so große zoologische Bedeutung haben, da sie nicht ständig auftreten.

Die *Amoeba bovis* ist ca 20 μ groß. Ist sie in der Ruhe, so hat sie eine viereckige Gestalt, bewegt sie sich, so wird die Gestalt in die Länge gezogen, es treten mannigfache Formen auf. Man kann ein hyalines Ectoplasma und ein körniges Entoplasma deutlich unterscheiden. Da, wo sich der Kern befindet, ist zuweilen ein

heller Fleck zu sehen. Die Körner im Protoplasma sind nicht alle gleich groß. Es gibt kleine, größere und große, welche Nahrungskörper darstellen. Bewegt sich die Amöbe, so strömt das körnige Protoplasma nach einer Richtung, es entsteht eine Art Fuß, welcher anschwillt, immer größer wird und so den übrigen Körper nachzieht. Die Bewegung ist langsam. Während das Entoplasma so beweglich ist, ist am Ectoplasma, wenigstens an den peripheren Teilen desselben, keine Strömung nachzuweisen. Werden Dauerpräparate hergestellt, so sieht man im Protoplasma größere und kleinere Hohlräume. Sie bezeichnen den Ort, wo die Nahrungskörper gesessen haben. Der Kern ist groß, rundlich oder oval.

Fortpflanzung habe ich nicht beobachtet. Gesehen habe ich die Amöbe im Panseninhalt von 3 Rindern der Schweiz.

Fam. ***Rhizomastigina*** Bütschli (15).

Genus *Mastigamoebe*.

Species *Mastigamoeba bovis*.

Die Größe derselben beträgt 25 μ.

Die Geißel ist 1—2 mal so lang als der Körper. Sie ist im Ectoplasma inseriert; sie ist in ihrem Verlauf gleichmäßig dick und kräftig. In der Nähe des Tieres ist sie gewöhnlich gleichmäßig gebogen, dagegen nimmt sie der Regel nach erst vom 2. Drittel ab eine schlängelnde, peitschenartige Bewegung an; die Bewegung der Geißel ist langsam.

Auch hier unterscheidet man ein hyalines Ecto- und ein körniges Entoplasma. Der Kern ist oval; die Körperform ist bei der Bewegung stark veränderlich, Fortsätze werden ausgeschickt und wieder eingezogen. Fortpflanzung habe ich nicht gesehen. Gefunden habe ich sie in dem Panseninhalt von 4 Rindern.

Ob die Amöben und Mastigamöben in einen Entwicklungskreis gehören, ob die Amöbe nicht auch eine Mastigamöbe ist, indem sie ein Stadium darstellt, in welchem sie die Geißel abgeworfen hat, oder ob es sich hier um 2 getrennte Parasiten handelt, kann ich nicht mit Sicherheit angeben, da ich zu wenig dieser Lebewesen zu Gesicht bekommen habe. Jedenfalls handelt es sich hier nur um zeitweise auftretende Parasiten.



Dinoflagellaten.

Fam. *Peridinida.*

Gen. *Peridinium* EHRENBERG (20).

Species *Peridinium tabulatum* CLAPARÈDE und LACHMANN (21).

Von kugeliger bis eiförmiger Gestalt. Die Länge beträgt 48 μ, die Breite 43. Die Netzleisten der Tafeln mit kleinen Stacheln besetzt. Chromatophoren tiefbraun. Apex mit der Apicalöffnung zu sehen. Quer- und Längsfurche sind gut ausgeprägt, erstere schwach rechts-schraubig, letztere mäßig breit. Hintere Körperhälfte etwas verkürzt. Die vordere Hälfte des Körpers mit 7 Äquatorialplatten, der Rautenplatte mit 2 seitlichen Apicalplatten und dazwischen 2 hinteinander gereihten dorsalen. Die Geißelspalte bis zur Querfurche gerückt.

Geißeln nicht gesehen, daher auch keine Bewegung. Im Panseninhalt von 4 Schweizer Rindern beobachtet.

Fam. *Dinophysida* STEIN (13).

Genus *Amphidinium* CLAPARÈDE und LACHMANN (21).

Species *Amphidinium lacustre* STEIN (13).

Die Gestalt ist ei- bis kugelförmig, zum Teil dorsoventral abgeplattet. Die vordere Hälfte ist klein, deckelartig. Die Längsfurche ist über die ganze Hinterhälfte ausgedehnt. Nach STEIN ist eine Hülle vorhanden, welche dünn und in der Längsfurche unterbrochen ist. Braune bis grüne Chromatophoren von bandförmiger bis kürzerer Gestalt, welche sich gewöhnlich um einen centralen Amylumkörper gruppieren. Nucleus in der Hinterhälfte. In der Querfurche eine contractile Vacuole. Am rechten Rande der Längsfurche leistenartiger Vorsprung. Länge 23 μ, Breite 18. Geißel nicht gesehen, desgleichen keine Bewegung. Im Panseninhalt von 4 Rindern beobachtet.

Einiges über die parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens.

An die Flagellaten will ich noch eine kurze Betrachtung über die im Pansen der Wiederkäuer vorkommenden Infusorien anreihen. Von einer Anzahl von Forschern sind erschöpfende Arbeiten geliefert

worden, zuletzt eine umfassende von Eberlein (12), so daß es für den ersten Augenblick überflüssig erscheint, daß ich noch etwas hinzufüge. Ich habe die Flagellaten, nachdem ich alle Methoden zu ihrer Erforschung angewandt hatte, im Leben in ihrer Pansenflüssigkeit studiert und dabei die Infusorien mit berücksichtigt. Mich interessierten besonders die Bewegungserscheinungen der Infusorien, welche zur Familie der *Ophryoscoleciden* gehören. Da ich des öfteren in der Folge auch in den später anzuführenden Versuchen die einzelnen Infusorien nenne, so will ich hier alle bisher gefundenen parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens aufzählen, indem ich von einer Beschreibung absehe. Ich verweise hierbei auf die ausführliche Arbeit von Eberlein (12).

A. Fam. ***Ophryoscolecidae*** Stein 1859 (14).

I. Gattung: *Ophryoscolex* Stein 1859.

1. *Ophryoscolex inermis* Stein 1859.
2. „ *caudatus* Eberlein 1894 (12)
3. „ *purkynei* Stein 1859.

II. Gattung: *Diplodinium* Schuberg 1888 (22).

1. *Diplodinium magii* Fiorentini 1889 (24).
2. „ *bursa* Fiorentini 1889.
3. „ *caudatum* Eberlein 1894 (12).
4. „ *dentatum* Fiorentini 1889.
5. „ *rostratum* Fiorentini 1889.
6. „ *ecaudatum* Fiorentini 1889.

III. Gattung; *Entodinium* Stein 1859 (13).

1. *Entodinium bursa* Stein 1859.
2. „ *caudatum* Stein 1859.
3. „ *dentatum* Stein 1859.
4. „ *rostratum* Fiorentini 1889.
5. „ *minimum* Schuberg 1888.

B. Fam. ***Isotrichidae*** Bütschli (15).

I. Gattung: *Isotricha* Stein 1859.

1. *Isotricha prostoma* Stein 1859.
2. „ *intestinalis* Stein 1859.

II. Gattung *Dasytricha* Schuberg 1888.

Dasytricha Ruminantium Schuberg 1888.

C. Gattung ***Bütschlia*** Schuberg 1888.

1. *Bütschlia neglecta* 1888.
2. „ *parva* 1888.

Bisher wurde in der Regel von den Forschern, welche über die Infusorien des Wiederkäuermagens gearbeitet haben, gesagt, daß der Körper der Infusorien, welche zur Familie der Ophryoscoleciden gehörten, starr und unbeweglich sei. Dem kann ich nicht beipflichten. Reizt man die Infusorien z. B. *Diplodinium dentatum* auf mechanischem oder thermischem Wege, so sieht man, wie sich dasselbe mit großer Geschwindigkeit in der Untersuchungsflüssigkeit bewegt und dabei seine Körperwand nach der Körpermitte zu einzieht. Die größte Einziehung der Körperwand ist in der Mitte derselben. Kurz darauf erweitert sich der Körper wieder, die Wand weicht nach außen aus. Dieser Vorgang wiederholt sich fortwährend. Dadurch wird die Geschwindigkeit, mit welcher der Körper vorwärts geschoben wird, erhöht. Nicht bei allen Diplodinien und Entodinien, welche im Gesichtsfelde zu sehen sind, ist diese Erscheinung zu bemerken, sondern nur an einigen. Diese Contractilität wird höchstwahrscheinlich durch die Grenzschicht, welche zwischen dem Ecto- und Entoplasma liegt, hervorgerufen. Schuberg (23) hat diese Grenzschicht zuerst erwähnt; Eberlein beschreibt sie dann eingehend. Sie ist eine selbständige, dicke Schicht, welche longitudinal eingelagerte Fibrillen erkennen läßt. Der Regel nach sind zwei nebeneinander verlaufende Lagen von Fibrillen nachzuweisen, zuweilen aber nur eine Lage. Eberlein rechnet die Grenzschicht auch zum Ectoplasma, weil die Tiere nach dem Absterben zuweilen das ganze Entoplasma durch den Schlund ausstoßen, während die Grenzschicht im Körper bleibt. Eberlein (12) hat für *Ophryoscolex caudatus* nachgewiesen, daß die Cuticula, die äußerste Schicht des Ectoplasmas, starr ist durch Einlagerung von Kieselsäure (SiO_2). Ich habe eine größere Anzahl *Diplodinium dentatum* in konzentrierte Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure und 33 Proz. Kalilauge für die Dauer von 3 Tagen gebracht, dann untersucht. Die meisten waren völlig aufgelöst, einige Schalen waren nur noch undeutlich zu erkennen. Auch sie zeigten teilweise Auflösung. Schließlich gab es nur wenige, bei denen die Cuticula völlig erhalten war. Sie ließ eine verschiedene Struktur erkennen. Man sah lauter glashelle Körner, welche in der Cuticula dicht nebeneinander verstreut lagen oder man sah ein Netzwerk von Leisten, welche sich von ihrer hellen Umgebung abhoben. Nach Hoffmann (25) ist Chitin, das hier wohl in erster Linie in Betracht kommen dürfte, in konzentrierten Säuren löslich. Einige Schalen sind aber noch völlig erhalten geblieben. Diese werden weiter auf Kieselsäure oder richtiger auf Kieselsäureanhydrid, SiO_2, untersucht. Sie ist in Pflanzen und besonders in

Gräsern reichlich vorhanden. Nach PINNER (26) und ARNOLD (27) ist sie unlöslich in Wasser und allen Säuren, durch Fluorwasserstoffsäure wird sie zersetzt. Die erhalten gebliebenen Schalen werden auf einen Objektträger, welcher mit einer dünnen Schicht Paraffin überzogen worden ist, gebracht und ein Tropfen Fluorwasserstoffsäure zugesetzt. Nach einigen Sekunden ist nichts mehr von den Schalen zu sehen als ein Häufchen kleiner Körnchen. Um zu erfahren, woraus die Cuticula der Infusorien, welche von den Säuren und der konzentrierten Kalilauge gelöst wurden, bestand, untersuchte ich nach C. VAN WISSELINGH (28) auf Chitin.

Für die Zeit von 2—3 Tagen läßt man eine größere Anzahl *Diplodinium dentatum* in 33 Proz. Kalilauge. Dann wird auf den Objektträger die Jodlösung zu den mit Kalilauge behandelten Diplodinien zugesetzt, außerdem läßt man ein wenig schwefelsäurehaltiges Wasser zufließen. Die Jodlösung besteht aus: 0,2 Teilen Jod, 2 Teilen Jodkali und 100 Aqua. Dazu kommt verdünnte Schwefelsäure von $47^1/_2$ Proz. Wenn die Cuticula aus Chitin bestände, so müßte eine rötlich violette Farbe eintreten; denn das Chitin wird in Mycosin umgewandelt, welches diese Farbe annimmt (28). Hier tritt diese Färbung aber nicht ein, sondern man sieht zwischen den Netzleisten, welche bläuliche Adern darstellen, eine bräunliche, leicht gelbliche oder auch braunrote Färbung. Die betreffende Cuticula dürfte daher aus einem Stoff bestehen, welcher dem Chitin ähnlich ist. Daß die Cuticula oder Pellicula, wie sie auch genannt wird, eines Teils der untersuchten *Diplodin. dent.* aus Kieselsäure bestand, stimmt mit den oben angeführten Beobachtungen der Infusorien in der Pansenflüssigkeit überein, denn es gibt eine größere Anzahl, deren Körperwand wie die Wand einer Tonne unbeweglich und starr ist. Andererseits dürfte aus der Untersuchung hervorgehen, daß die Cuticula eines Teils der *Diplod. dentat.* nicht aus Kieselsäure bestand. Es dürfte daher niemand in Erstaunen setzen, wenn er plötzlich von einer biegsamen, elastischen Körperwand der Ophryoscoleciden hört.

Die Ophryoscoleciden, welche einen Schwanz besitzen:

1. *Ophryoscolex caudatus* EBERLEIN (12)
2. *Diplodinium caudatum* EBERLEIN
3. „ *rostratum*
4. *Entodinium caudatum*
5. „ *rostratum*

bewegen diesen. Sie schlagen ihn teils nach rechts, teils nach links. Die Bewegung des Schwanzes ist kräftig, so daß dadurch der Körper

wie ein Kahn vorwärts geschoben wird. Daneben dient der Schwanz auch als Steuer. Der Schwanzfortsatz des *Diplodinium caudatum* beim Schaf ist lang und dünn, nicht so dick, wie er hauptsächlich gezeichnet wird. Die Bewegung des Schwanzfortsatzes ist nicht immer zu erkennen.

Zum Schluß sei mir noch eine kurze Betrachtung über die Flagellaten und Infusorien im allgemeinen gestattet. Die Infusorien als Infusionsbewohner können nur bei Zimmertemperatur, also bei einer Temperatur von 10—20° C, gut gedeihen; Temperaturoptimum. Bei Bruttemperatur, 35—39° C, schlüpfen sie aus ihren Cysten nicht aus. Die parasitischen Infusorien dagegen können nur bei Körpertemperatur leben, also bei ca. 37—39° C. Werden sie aber auf niedere Temperatur gebracht, z. B. auf 20° C, so sterben sie in ungefähr 4—24—36 Stunden ab. Bei noch niederer Temperatur, vielleicht bei 5° C, tritt der Tod schnell ein.

Ganz anders verhalten sich die Flagellaten. Die Infusionsbewohner derselben leben bei —° C noch, sie vermehren sich bei Zimmertemperatur bedeutend, können aber auch, wie aus den später anzuführenden Ursachen hervorgeht, Körpertemperatur, also 35 bis 39° C, vertragen, schlüpfen aus und vermehren sich sogar. Die parasitischen Flagellaten dagegen können nur bei Körpertemperatur existieren und sich vermehren, dagegen gehen sie bei niederen Temperaturen zugrunde. Freilich sind sie bedeutend widerstandsfähiger als die parasitischen Infusorien. Von ihnen sind die *Entodinia minima* und die Isotrichen am widerstandsfähigsten. die Flagellaten übertreffen jedoch noch diese an Lebensenergie. Wir können es jetzt leicht verstehen, wie aus Flagellaten, welche Saprophyten sind, Parasiten werden können. Der Beweis für meine Behauptung geht aus den noch anzuführenden Versuchen hervor. Die Saprophyten können sich danach allmählich an die Körpertemperatur gewöhnen, und zwar sind die kleinsten Formen, welche 4 μ groß sind, am widerstandsfähigsten. Sie treten zuerst auf und vermehren sich auch. Dann kommen auch die größeren Formen. Alle diese haben mindestens eine contractile Vacuole, sind also daran schon gut als Saprophyten zu erkennen. Wenn man diese Form künstlich im Brutofen züchten kann, so kann man sich leicht vorstellen. daß sie sich ebenso im Laufe der Zeit an die hohe Temperatur im Pansen und an die Lebensbedingungen. welche dort gegeben sind, gewöhnt haben. Daß sie dann allmählich auch eine Umwandlung erfahren haben, Verlust der contractilen Vacuolen, große Empfindlichkeit gegen niedere Temperaturen, daß sie also im Laufe der

Zeit durch Anpassung Parasiten geworden sind, ist leicht einzusehen.

Die Verbreitung der parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens.

In außerordentlich großer Zahl zeigen sich die Flagellaten in den Präparaten. CERTES (4) macht in seiner kurzen Arbeit auch darauf aufmerksam. Ich habe den Hauben- und Panseninhalt von 114 Rindern, 37 Schafen, 10 Ziegen, 2 Rehen und 12 Kälbern untersucht. Die Tabellen, welche ich über die Häufigkeit des Auftretens der Protozoen des Wiederkäuermagens aufgestellt habe, will ich nicht anführen, weil das ermüden würde. Ich werde daher nur das Resultat erwähnen:

Flagellaten kamen in dem Inhalt des Pansens und der Haube der bezeichneten Wiederkäuer, welcher zum Teil aus zerkleinertem Heu oder Gras bestand, stets vor und zwar der Regel nach auch alle Species. Der Panseninhalt reagierte alkalisch, neutral oder schwach sauer.

Lebende Infusorien fand ich dagegen nicht bei 3 Ziegen, welche mäßig gut genährt waren. Der Panseninhalt bestand aus zerkleinertem Gras, reagierte alkalisch. Bei 6 Rindern waren nur sehr wenig Infusorien vorhanden. Bei 32 Rindern waren Iso- und Dasytrichen in größerer Zahl zugegen, dagegen traten die Ophryoscoleciden, Diplodinien und Entodinien an Zahl stark zurück. Sie waren nur vereinzelt vorhanden. Waren Infusorien gar nicht zugegen oder kamen die Diplodinien und Entodinien nur spärlich vor, so waren die Flagellaten in noch größerer Anzahl als gewöhnlich vorhanden, die Körnelung war stärker; besonders fiel die vermehrte Zahl der größeren Flagellaten auf. Bei 22 Rindern waren Diplodinien und Entodinien reichlich vorhanden, die Flagellaten standen aber auch nicht mehr als gewöhnlich den Infusorien an Zahl nach. Die Diplodinien und Entodinien erwiesen sich als die größten Feinde der Flagellaten. Man sieht diese Infusorien oft mit den Flagellaten angefüllt. Die mittelgroßen und kleinsten Flagellatenformen, welche ich mit dem Beinamen *communes* und *minimae* bezeichnet habe, sind der Regel nach in ungeheurer Anzahl vorhanden, die großen Formen, die *maximae*, treten im Vergleich zu diesen spärlich auf. Vielleicht hat das seinen Grund darin, daß die größten Formen sich schwer gegen ihre Feinde schützen können, weil sie nicht so behend sind wie die mittelgroßen und kleinsten Formen.



Die Amöben wurden bei 3, die Mastigamöben bei 4 Rindern gesehen. Die Dinoflagellaten kamen bei 4 Rindern vor.

Der Hauben- und Panseninhalt der Kälber zeigt keine Protozoen. Er hatte eine gelbliche Farbe, eine dickflüssige Konsistenz und war zum Teil mit weichen Gerinseln durchsetzt, er zeigte die Eigenschaften des Milchchymus, eine stark saure Reaktion. Pflanzliche Elemente fand ich nicht vor. Diese Tatsache, daß sich bei keinem Saugkalbe weder Flagellaten noch Infusorien finden, ist nicht auffallend. Wie aus den späteren Versuchen hervorgeht, haben die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens eine neutrale, alkalische oder höchstens ganz schwach saure Reaktion und chlorophyllhaltige, cellulosereiche Nahrung zu ihrem Leben nötig.

Die Flagellaten fand ich, wie bereits erwähnt, in dem Hauben- und Panseninhalt von 163 Wiederkäuern. Diese Zahlen zeigen, daß die Flagellaten bei 100 Proz. der gesunden Tiere vorhanden sind. Dieser Prozentsatz in Verbindung mit der Tatsache, daß ich das Material niemals von ausgesuchten Tieren, sondern in der Reihenfolge, wie sie der Zufall mir bot, entnommen habe, und daß die Tiere sich meistens in gutem Nährzustande befunden haben, rechtfertigt die Schlußfolgerung, daß die Flagellaten einen normalen Bestandteil des I. und II. Magens der Wiederkäuer bilden und selbstverständlich nicht als pathologische Erscheinungen zu betrachten sind.

Die geographische Verbreitung der Flagellaten und Infusorien.

Die Schafe und Rinder, welche auf dem hiesigen Schlachthofe zur Schlachtung gelangen, stammen, wie meine Nachforschungen ergeben haben, aus verschiedenen Kantonen der Schweiz. Der größte Teil der Mastochsen dagegen wird aus anderen Ländern eingeführt, 1. aus Paray, Sarne et Loire, Doubs und H. Rhin in Frankreich. 2. aus Rovato, Prov. Brescia in Italien, 3. aus Hoogezand und Schiedam in Holland. In den bezeichneten Ländern werden die Mastochsen von Händlern aufgekauft, werden in den genannten Orten verladen und kommen per Eisenbahn nach Bern. Die Zeit, welche ein solcher Rindertransport braucht, um von der Schweizer Grenze nach Bern zu gelangen, beträgt, wie ich aus den Frachtbriefen ersehen habe, ca. 12—15 Stunden. Die Tiere werden der Regel nach kurz nach der Ankunft auf dem neuen Schlachthofe geschlachtet. Sie haben gewöhnlich weder auf den Haltestationen in der Schweiz, noch auf dem Schlachthofe Futter erhalten. Die Flagellaten und Infusorien, welche ich daher in dem Panseninhalt

dieser Mastochsen gefunden habe, stammen also aus der Heimat derselben. Das gilt nur für diejenigen aus Italien und Frankreich. Für die Holländer ist der Beweis jedoch nicht streng durchzuführen. Sie kommen durch das Rheinland und werden auf diesem langen Wege gefüttert. Die Flagellaten und Infusorien, welche ich in dem Pansen dieser Ochsen gefunden habe, werden daher teils rheinländischen, teils holländischen Ursprungs sein.

Außerdem untersuchte ich Rinder, Schafe und Ziegen der Provinz Posen. Auch dort fand ich Flagellaten und Infusorien in großer Menge, auch alle Species derselben.

Durch die Liebenswürdigkeit einiger Herren erhielt ich Panseninhalt, welcher mit einer verdünnten Pikrinsäurelösung versetzt worden war, von Mastochsen aus Dänemark, vom Niederrhein, aus dem Wupperthal und aus Oberschlesien. Überall fanden sich die Flagellaten und Infusorien in außerordentlicher Zahl vor.

Diese Untersuchungen zeigen, daß die parasitischen Protozoen des Wiederkäuermagens nicht nur auf ein bestimmtes geographisches Gebiet beschränkt sind, sondern daß sie eine allgemeine Verbreitung haben.

Physiologische Bedeutung der Flagellaten und Infusorien.

Es ist nicht anzunehmen, daß die Flagellaten und Infusorien, welche stets in ungeheurer Zahl auftreten, für den Organismus ihres Wirts gleichgültig sein können. Daß sich alle von mir untersuchten Wiederkäuer in gutem Nährzustande befanden, der größte Teil derselben gemästet war, geht daraus hervor, daß die Flagellaten und Infusorien keinen Nachteil für den Wirt bedingt haben. Es drängt sich uns unwillkürlich die Frage auf, welche physiologische Bedeutung diesen Protozoen wohl beizumessen wäre. Weil das Vorkommen der Infusorien ausschließlich auf das Rumen und Reticulum, das Vorkommen der Flagellaten in der Regel auch auf dieselben Magenabteilungen beschränkt ist, so liegt es nahe, die Bedeutung der Parasiten in Beziehung zur Verdauung zu bringen.

Von verschiedenen Autoren sind Betrachtungen hierüber angestellt worden.

Gruby und Delafond (29) sagen, daß den Infusorien irgendeine Bedeutung für die Verdauung zukommen müsse, eine Auffassung, welche auch Collin (30) teilt. Weiss (31) hat eine entgegengesetzte Ansicht, und Zürn (32) meint, daß sie, wenn sie in zu großer Anzahl vorkommen, zu Magen- und Darmkrankheiten führen können. Gegen diese Ansicht

sprechen alle meine bisher angeführten Untersuchungen. List (33) spricht den Infusorien die Aufgabe zu, der dem tierischen Organismus eventuell gefährlich werdenden Vermehrung der Spaltpilze dadurch zu steuern, daß sie dieselben auffressen und vernichten. Ich muß zugeben, daß man im Innern der Infusorien und auch der Flagellaten Bacterien findet, daß sie aber die ihnen von List zudiktierte Bedeutung nicht haben. Certes (6) spricht die Ansicht aus, daß die Infusorien die fermentativen Prozesse im Pansen bedingen. Dieser Ansicht stehe ich direkt gegenüber. Würde die Ansicht von Certes zutreffen, so hätten die früher erwähnten 3 Ziegen, welche keine Infusorien hatten, nicht am Leben bleiben dürfen. Ich habe gesehen, daß die Ophryoscoleciden, Diplodinien und Entodinien mit grünen Pflanzenpartikelchen vollgepfropft waren; die Iso- und Dasytrichen hatten dagegen der Regel nach keine Cellulosebestandteile in ihrem Innern. Die Pflanzenteile werden nicht wieder als solche ausgestoßen, sondern eine formlose, gekörnte Masse wird ausgeschieden. Die Cellulose wird daher von den Infusorien verdaut. Die Infusorien schaffen nach Eberlein den Wohntieren dadurch Nutzen, daß dieselben bei ihrer ungeheuren Zahl einen Teil der Cellusose in einen resorbierbaren Stoff überführen. Auch dadurch, daß die Infusorien in den weiteren Magen- und Darmabteilungen absterben und verdaut werden, erhöhen sie den Stoffwechsel des Wirts. Dieser Ansicht Eberlein's (12) pflichte ich vollständig bei. Günther sagt, er könne sich kaum denken, daß durch die Verdauung der im Verhältnis zur ganzen Masse verschwindend geringen Menge Cellulose dem Wohntier ein derartiger Nutzen verschafft werden soll.

Man ist ja geneigt, den Infusorien eine zu große Bedeutung in der Celluloseverdauung beizumessen. Dafür, daß man das nicht tun darf, sprechen die Rinder, in deren Panseninhalt die Diplodinien und Entodinien, welche allein hier als Heu und Gras fressende Infusorien in Betracht kommen, in verschwindend geringer Menge vorhanden waren. Trotzdem waren die Ochsen vollgemästet.

Die Flagellaten, Iso- und Dasytrichen nehmen die in der Pansenflüssigkeit gelösten Nährstoffe auf, schädigen daher den Wirt. Das ist aber nur scheinbar. Durch die kräftigen Contractionen der Pansenmuskeln werden die am meisten macerierten Futtermassen und mit ihnen die Protozoen auf dem Wege der Schlundrinne in den Labmagen gebracht; dort werden sie durch die stark saure Reaktion getötet. Ihr Protoplasmakörper, welcher aus leicht löslichen Eiweißstoffen besteht, wird verdaut. Der eventuell noch übrig bleibende Teil der toten Protozoen unterliegt dann im Darm der Verdauung. Wenn dieselben nun in dieser ungeheuren Zahl vorkommen, liegt es klar auf der Hand, daß sie für den Wirt von einem gewissen Nutzen sind.

Infektionsquelle der Wiederkäuer.

Obwohl ich in meiner Arbeit das Hauptgewicht auf die Flagellaten des Wiederkäuermagens gelegt habe, will ich doch bei den Infektionsversuchen die Infusorien mit berücksichtigen. Bevor ich mit den Versuchsprotokollen beginne, muß ich einige einleitende Angaben vorausschicken.

Zehn Ziegen im Alter von ca. 5–9 Monaten wurden zu den Versuchen verwandt. Die Ziegen sind äußerst empfindliche Tiere, Kälte oder Feuchtigkeit des Lagers können sie nicht vertragen. Leicht bekommen sie Magen- und Darmkatarrh, welche innerhalb 24—36 Stunden den Tod hervorrufen können. So schnell wie der letale Ausgang eintritt, erfolgt aber auch bei richtiger Behandlung die Genesung. Die meisten Ziegen sind in der Aufnahme der Nahrung sehr wählerisch. Es dürfen nur sehr kräftige, gut genährte Tiere. welche tüchtige Fresser sind, zu den Versuchen verwandt werden. Die Tiere müssen sich stets in einem geschlossenen Raum befinden. Die Fütterung hat im Beisein dessen zu erfolgen, der die Versuche anstellt, sollen keine Fehlresultate eintreten. Denn es kann doch hin und wieder vorkommen, daß Tiere, welche kein rohes Heu bekommen dürfen, solches aus Unkenntnis vorgelegt erhalten und so den Versuch fehlgehen lassen. Die Versuchstiere werden in große Kisten gesetzt, welche vorher mit heißer 2proz. Essigsäure gründlich gereinigt worden sind. Die Ziegen selbst werden vor Beginn der Versuche mit 0,5proz. warmer Essigsäure gereinigt und getrocknet. Die Proben zur Untersuchung des Panseninhaltes werden mit Hilfe der Schlundsonde für kleine Haustiere von Hauptner, Instrumentenfabrik, Berlin, Louisenstr., entnommen. Auf die Schlundsonde wird eine Pravazspritze von 30 ccm Inhalt geschraubt. Sonden wie Spritzen werden sofort nach der Entnahme der Probe wie kurz vor derselben mit 1proz. Sublimatlösung oder 2proz. Essigsäure gereinigt, darauf in Wasser, das 3 Stunden im Papin'schen Topf gekocht hat. durchgespült. Auch die Hände des Operateurs werden auf diese Weise desinfiziert.

Die Versuche mit lebendem Material erfordern in erster Linie eine Desinfektion des Magens, d. h. der Panseninhalt muß protozoenfrei gemacht werden und auch so bleiben. Es muß ein Panseninhalt geschaffen werden, welcher alle für das Leben der Protozoen nötigen Bedingungen hat. Diese hat Günther (34), wie weiter unten gezeigt werden wird, mit seinen Versuchen nicht geschaffen. Eberlein hat als erster den Panseninhalt mit Sublimat desinfiziert. Er

kommt zu der Schlußfolgerung: „Eine bedingte Desinfektion des Magens und Darms läßt sich durch Sublimat erreichen. Sehr störend hierbei ist aber die ganz bedeutende Empfindlichkeit aller Wiederkäuer gegen Sublimat."

Günther hat reine Salzsäure und Citronensäure angewandt und gefunden, daß das Allgemeinbefinden der Tiere dabei ungestört bleibt. Ich habe zunächst ebenfalls die konzentrierte Salzsäure und Essigsäure verwandt. Nach der Methode von Günther gebrauchte ich auch Gelatinekapseln, welche aber nicht 1,0 g Salzsäure, sondern 2,0 g faßten. Die Kapseln wurden, damit sie von der Säure nicht aufgelöst wurden, mit einer dünnen Paraffinschicht außen und innen überzogen, darauf mit der Säure gefüllt. Das Eingeben dieser Kapseln war nicht leicht. Wenn man sich auch mit der Zeit eine gewisse Übung aneignet, so werden die älteren Tiere allmählich so schlau, daß sie die Kapseln mit dem Rücken ihrer Zunge erfassen, wenn dieselben auch noch so weit in den Mund hineingebracht werden, und zwischen ihre Zähne bringen. Eine Verätzung der Schleimhaut wird durch sofortiges Nachgießen kalten Wassers verhindert. Nicht alle Kapseln kommen in den Pansen, einige davon gehen auch in den Labmagen, wo die Hülle aufgelöst wird und die Säure heraustritt. Die Ziegen werden plötzlich traurig, legen sich mit untergeschlagenen Vorderbeinen nieder und zeigen Schmerzen, welche durch eine artifizielle Entzündung der Labmagenschleimhaut hervorgerufen wird, wovon ich mich nach der Tötung eines solchen Tieres überzeugte. Die Desinfektion des Pansens dieser Tiere stößt auf die größten Schwierigkeiten, weil er bereits völlig ausgebildet ist. Ich habe auch mit der Günther'schen Methode keine Desinfektion hervorrufen können, obwohl ich einer Ziege innerhalb 12 Tagen 70 Kapseln à 2,0 g Salzsäure verabreicht hatte. Günther hat Zicklein von 4 Wochen verwandt. Daß ein solches Tier, das bisher nur an Milchnahrung gewöhnt war, nur Spuren von Heu aufnimmt, ist selbstverständlich.

Außerdem ist der Pansen noch gar nicht ausgebildet, er stellt im Vergleich zum Labmagen nur ein Anhängsel dar. Günther hat innerhalb zweier Tage 10—12 Kapseln verabreicht, nachdem das Tier mindestens 1 Tag vorher gehungert hatte. Er hat die Tiere vor dem Versuch auch längere Zeit hungern lassen, nehmen wir 3 Tage an. Der Versuch dauerte 2 Tage, bis die Desinfektion erreicht war, das sind 5 Tage. Während derselben erhält die Ziege kein Heu; die geringe Quantität, welche in dem kleinen Pansen sich befand, verschwindet in dieser Zeit allmählich, der Nährboden

wird den Protozoen entzogen, so daß es jetzt ein leichtes ist, die Protozoen mit Hilfe der sauren Reaktion zu töten. Wartet man noch einige Zeit, bis schließlich jede Spur von Heu aus dem kleinen Pansen verschwunden ist, so gehen die Infusorien ohne Salzsäure zugrunde, was aus meinen Versuchen später hervorgehen wird.

Ich mußte daher auf ein anderes Mittel zur Desinfektion des Pansens sinnen. Die Tiere mußten vor den Versuchen 3 Tage hungern. Der Pansen der Ziegen faßte ungefähr 10 l Flüssigkeit. 0,5 proz. Essigsäure (35) tötet die Infusorien sicher und momentan ab. Es genügt aber schon eine saure Reaktion. Folglich nahm ich 300—500 ccm 6 proz. Essigsäure, die ich vermittels der Schlundsonde in den Pansen einführte. Damit konnte ich in einem Falle zum Ziele kommen, allerdings erst nach 8 Tagen, weil ein Teil der Essigsäure auf dem Wege der Schlundrinne in den Labmagen und das Duodenum übergegangen war und dort eine Entzündung der Schleimhaut hervorgerufen hatte. Sofortiges Abbrechen des Versuches und Behandlung des Tieres ließen dasselbe sich innerhalb 6 Stunden wieder erholen.

Da das Verfahren zu langwierig und gefährlich war, versuchte ich schließlich den Pansen direkt zu desinfizieren.

4 Finger breit unterhalb des linken äußeren Darmbeinwinkels, 4 Finger breit unterhalb der falschen Rippen wurde eine handbreitgroße Stelle geschoren, rasiert und desinfiziert. Darauf wird ein Trokar, wie man ihn zum Bruststich für Pferde verwendet, nachdem er mit 2 proz. Essigsäure desinfiziert und mit gekochtem Wasser durchgespült worden ist, in die Mitte der bezeichneten Stelle schräg nach dem rechten Ellenbogengelenk gestoßen, das Stilet herausgezogen und durch die Kanüle mit Hilfe eines Infusionsapparates $^1/_2$ l 5 proz. Essigsäure direkt in den Pansen gebracht, wobei die Kanüle nach allen Richtungen gedreht wird, um den Essig gut zu verteilen. Damit ist es mir gelungen, eine Desinfektion des Pansens herbeizuführen. Die Hülse des Trokars bleibt so lange im Pansen liegen, bis die vollständige Desinfektion desselben bewerkstelligt ist. Man erkennt sie daran, daß die mit der Schlundsonde entnommene Probe keine lebenden Protozoen enthält, sowie auch die Pansenflüssigkeit, welche durch die Pansenkanüle bei Druck auf den Pansen herausfließt. Die Kanüle wird gleich nach der Essiginfusion mit einem Holzstöpsel geschlossen und ein Verband über dieselbe und den Bauch des Tieres gelegt. Die Kanüle kann man ohne Schaden 2 Wochen im Pansen belassen, wenn man gut aseptisch resp. antiseptisch vorgegangen ist. Nachdem die Versuche beendet waren, sah ich am getöteten und obduzierten Tier an der Stelle, wo der Trokar eingestochen war, eine bindegewebige Verwachsung von der Größe eines Kinderhandtellers. Das Band, das entstanden war, war grauweiß. Das übrige Bauchfell sowie der seröse Überzug des Pansens zeigten keinerlei krankhafte Veränderungen. Die Desinfektion des Pansens bietet also die größten Schwierigkeiten bei den



Versuchen mit älteren Tieren, weil diese einen bereits völlig ausgebildeten großen Pansen haben, der eine große Menge Rauhfutter aufnimmt, weil der Organismus der Tiere sich schon an die Verarbeitung großer Mengen Rauhfutter gewöhnt hat, der Labmagen und Darm nicht auf intensive konzentrierte Fütterung eingerichtet sind.

Nun wird der Panseninhalt für die Folgezeit protozoenfrei gehalten. Günther (34) hat als erster durch eine geeignete Fütterung, ohne weiter desinfizieren zu müssen, das bewerkstelligt. Er verfütterte Leinkuchen mit gekochtem Wasser aus einem Dampfkessel unter mindestens 4 Atmosphären Druck; auch durch Verfütterung von geschälten Mohrrüben und Kartoffeln tritt eine alkalische Reaktion ein. Ich habe dies durch meine Versuche bestätigt gesehen, habe dann noch gefunden, daß Haferschrotsuppen ebenfalls geeignet sind, den Pansen protozoenfrei oder, wie Günther sagt, neutral zu erhalten. Diese Nährböden sind zwar ein gutes Mittel, um den Pansen protozoenfrei zu erhalten, sie sind aber Nährböden, mit denen man weiter nichts anfangen, keine weiteren Versuche machen kann, weil die Flagellaten und Infusorien darauf nicht existieren können. Sie brauchen unbedingt Heu zu ihrer Ernährung, Cellulose und vor allem Chlorophyll. Denn die Infusorien gehen schon zugrunde, wenn der Panseninhalt noch ausgelaugtes, chlorophyllfreies, gelbes Heu, welches das Aussehen von Stroh hat, enthält. Die Ophryoscoleciden sind, wenn sie sich wohl befinden, vollgepfropft mit grünen Inhaltsmassen, welche aus zerkleinertem Heu bestehen. Die Flagellaten und Infusorien sind unbedingt an das Heu gebunden. Als günstiger Nährboden dürfte das auf meine Art und Weise desinfizierte Heu betrachtet werden, das auch noch zum Teil seinen aromatischen Geruch behalten hat. Während der Dauer der Versuche bekommt jede Ziege in der Regel täglich 5 rohe Eier in den Mund eingegossen und zuweilen 2 l gekochte milchige Haferschrotsuppen per Clysma.

I. Versuchsreihe.

Versuche zur Desinfektion des Pansens.

1. Versuche mit konzentrierter Salzsäure und Essigsäure.

a) Große weiße, gut genährte Ziege mit übereinander geschlagenen Hörnern. Die Untersuchung des Panseninhaltes ergibt zahlreiche Infusorien, *Ophryoscolecidae*, *Isotrichidae*. Ich führe nur der Einfachheit halber die Familiennamen an, meine damit aber alle Species der-

selben. Daneben kommen die von mir beschriebenen Flagellaten vor und Bacterien.

Die Ziege muß 3 Tage hungern, sie erhält nur Wasser, welches 3 Stunden im Papin'schen Topf gekocht hat. — In der Folgezeit werde ich nur von gekochtem Wasser sprechen, ich meine damit stets auf diese Weise gekochtes. —

Am 4. Tage erhält sie 4 Gelatinekapseln à 2,0 g Salzsäure; als Nahrung geschälte Rüben und gekochtes Wasser.

Am 5. Tage sind Infusorien, Flagellaten und Bacterien noch in großer Zahl vorhanden. Die Ziege erhält 5 Kapseln à 2,0 Salzsäure. Die Fütterung besteht in Rüben und gekochtem Wasser; sie ist auch an den folgenden Tagen dieselbe.

6. Tag: Infusorien, Flagellaten und Bacterien zahlreich, 6 Kapseln Salzsäure.

7., 8. und 9. Tag: Rüben- und Kartoffelfütterung, an jedem der Tage 6 Kapseln Salzsäure.

10. Tag: Protozoen zahlreich, 6 Kapseln Salzsäure.

11. Tag: Protozoen vorhanden, 5 Kapseln Salzsäure.

12. Tag: Ziege ist traurig, nimmt keine Nahrung, erhält daher 6 rohe Eier und Leinkuchensuppen. Keine Salzsäurekapseln. Protozoen vorhanden.

13. Tag: Ziege noch ein wenig traurig, Appetit schon besser. Flagellaten, Bacterien und eine größere Anzahl *Entodinia min.*, wenig Isotrichen. Die größeren Infusorien dagegen nur in geringer Anzahl vorhanden. Daß die *Entodinia min.* so zahlreich vorkommen, hat seinen Grund nach EBERLEIN und GÜNTHER darin, daß sie schwerer abzutöten sind als die größeren Infusorien.

14. Tag: Protozoen vorhanden; 5 Kapseln Salzsäure, Eier und Nährklystiere, auch die folgenden Tage.

15. Tag: Flagellaten, *Isotricha prostoma* und *intestinalis*, *Entodinium minimum*; 6 Kapseln Salzsäure.

16. Tag: Flagellaten, Isotrichen, *Entodinium minimum*. 6 Kapseln HCl.

17. Tag: Protozoen und Bacterien.

18. Tag: Flagellaten, viele Isotrichen und weniger Entodinien. 6 Kapseln Salzsäure.

19. Tag: Flagellaten, viele Isotrichen und Bacterien.

Der Versuch wird abgebrochen. Die Ziege erhält wieder rohes Wasser und gutes Wiesenheu. Der Versuch wird an 2 anderen Ziegen 2 mal mit demselben Erfolg resp. Mißerfolg durchgeführt.

b) Die 2. Ziege, ein großes weißes Tier mit geraden Hörnern, erhält anstatt der Salzsäurekapseln solche mit konzentrierter Essigsäure à 2,0 g.

c) Das 3. Tier, ein schwarzer kräftiger Ziegenbock, erhält wieder Salzsäurekapseln. Am 18. Versuchstage wird er $^1/_2$ Stunde nach dem Eingeben der Kapseln plötzlich traurig, er legt sich auf die Unterbrust und zeigt Schmerzen. Er wird einige Stunden danach getötet und obduziert. Es zeigt sich, daß sich 2 Kapseln im Labmagen befinden, dort sich geöffnet haben und der Inhalt eine Ätzung und zirkumskripte Entzündung der Labmagenschleimhaut hervorgerufen hat.



2. Versuche mit 6proz. Essigsäure per Schlundsonde.

a) Ziege Nr. 4. Sie ist klein, weiß und gut genährt. Die Panseninhaltsprobe weist Bacterien, Flagellaten und Infusorien in großer Zahl auf. Die Ziege muß 3 Tage hungern.

Am 4. Tage bekommt sie 300,0 g 6 proz. Essigsäure auf dem Wege der Schlundsonde in den Pansen. An diesem Tage wie auch an den folgenden besteht die Nahrung aus Kartoffeln und gekochtem Wasser. — Wenn ich von Kartoffeln oder Rüben spreche, meine ich stets geschälte, was ich jedoch der Kürze halber nicht immer erwähne. — Bacterien, Flagellaten und Infusorien sind vorhanden.

5. Tag: Man kann mit der Schlundsonde nicht in den Pansen hinein.

6. Tag: Bacterien, Flagellaten und Infusorien vorhanden; Reaktion des Panseninhalts neutral. 300,0 g 6 proz. Essigsäure.

7. Tag: 350 ccm 6 proz. Essigsäure.

8. Tag: Bacterien, Flagellaten und Infusorien. Reaktion alkalisch. $^1/_2$ l 6 proz. Essigsäure mittags und $^1/_2$ l 6 proz. Essigsäure abends.

9. Tag: Bacterien, Flagellaten und Infusorien sind vorhanden, wenn auch wenig zahlreich. Reaktion neutral. $^1/_2$ l 6 proz. Essigsäure per Schlundsonde in den Pansen. Die Ziege bekommt Leinkuchensuppen. Eier und 1 mal täglich Nährklystiere, auch an den folgenden Tagen.

10. Tag: Kein Essig wird verabreicht. Das Tier ist traurig, will keine Nahrung zu sich nehmen. Bei Druck auf den Schaufelknorpel (Labmagen) Spannen der Bauchdecken, Schmerzäußerungen im Blick und Stöhnen; artifizielle Labmagenentzündung. Die Behandlung besteht in feuchter Wärme und Haferschrotsuppen.

11. Tag: Die Ziege ist wieder munter. Der Panseninhalt reagiert alkalisch, er zeigt keine Infusorien mehr, nur ganz spärlich vorkommende Flagellaten. Sie erweisen sich in den Versuchen stets am widerstandsfähigsten. Zuerst sterben die größeren Infusorien, z. B. *Diplodinium bursa*, dann die kleineren, *Entodinium minimum*, dann erst die Isotrichen und schließlich erst die Flagellaten. 300,0 ccm 6 proz. Essig.

12. Tag: Keine lebenden Infusorien und Flagellaten mehr zu sehen. Reaktion alkalisch. Die Nahrung besteht in geschälten Kartoffeln, Rüben und Haferschrotsuppen. Diese Fütterung wird die folgenden Tage fortgesetzt. Der Appetit ist den Umständen entsprechend gut.

An den folgenden 8 Tagen wird der Panseninhalt täglich untersucht, ohne jedoch irgend etwas Lebendes an Protozoen zu entdecken.

b) Derselbe Versuch wurde an der Ziege Nr. 5, welche schwarzbunt ist, wiederholt. Auch hier waren zu Anfang des Versuchs alle Flagellaten und Infusorien im Panseninhalt vorhanden, der eine neutrale Reaktion aufwies. Die Zahl der Flagellaten und Infusorien wurde bei der angegebenen Essigsäurebehandlung immer kleiner, bis schließlich am 8. Tage nur ganz vereinzelte *Entodinia minima* und *Sphaerom. min.* vorhanden waren. Das Tier zeigt an diesen Tagen aber Krankheitserscheinungen. Es wird traurig, legt sich auf die Unterbrust, zeigt bei Druck auf die Schaufelknorpelgegend Schmerzen. Es wird sofort getötet und obduziert. Der Panseninhalt zeigt nur noch ganz vereinzelte *Entodin. min.* und *Sphaerom. min.* Die Schleimhaut des Schlundes ist blaß, sie

hat das Aussehen wie bei einem gesunden Tier. Die Serosa der Haube, des Pansens und Psalters zeigen eine graue normale Farbe, desgleichen die Mucosa derselben. Die Serosa des Labmagens ist gerötet, die Wand desselben geschwollen und leicht serös infiltriert. Die Schleimhaut gerötet, geschwollen und in zahlreiche Falten gelegt. Auch das Duodenum zeigt eine Rötung seiner Serosa, Schwellung, Rötung und Faltenbildung seiner Mucosa. Alle übrigen Organe des Tieres haben das Aussehen von Organen einer gesunden Ziege. Ein Teil des Essigs muß daher auf dem Wege der Schlundrinne in den Labmagen und Zwölffingerdarm gekommen sein und hier eine Entzündung derselben hervorgerufen haben.

3. Versuche mit direktem Angriff des Pansens vermittelst des Pansenstichs.

a) Ziege Nr. 6. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem Rücken. Das Tier muß 3 Tage hungern, es erhält nur gekochtes Wasser. Der Panseninhalt weist alle Species von Flagellaten und Infusorien auf. Als Nahrung bekommt sie alle folgenden Tage Kartoffeln und Haferschrotsuppen. Ich meine hier wie überall dort, wo ich sie erwähne, gekochte Haferschrotsuppen.

Am 4. Tage erhält sie durch die Pansenkanäle in der oben beschriebenen Weise 300,0 ccm 6 proz. Essigsäure.

Am 5. Tage $^1/_2$ l 6 proz. Essigsäure.

Am. 6. Tage enthält die Pansenprobe keine Spur von lebenden Flagellaten und Infusorien mehr. Die Reaktion ist alkalisch. Die Ziege erhält 6 rohe Eier und 1 mal täglich Nährklystiere. Die Trokarkanüle wird aus dem Pansen gezogen, die Wunde mit Jodoformcollodium geschlossen und ein Trockenverband angelegt. Die Wunde heilt per primam ab, keine schädlichen Nachwirkungen sind an dem Tier zu sehen. Die folgenden 14 Tage wird sie mit Kartoffeln, Rüben, Haferschrotsuppen ernährt, hin und wieder bekommt sie auch rohe Eier. Täglich wird der Panseninhalt untersucht, ohne daß auch nur ein einziges lebendes Protozoon sich gezeigt hätte. Die Reaktion ist stets alkalisch. Das Tier ist munter und nimmt seine Nahrung mit verhältnismäßig gutem Appetit auf.

b) Tier Nr. 7. Weißer Ziegenbock.

Der Panseninhalt weist wieder alle Species Flagellaten und Infusorien auf. 3 Tage wird der Bock auf Diät gestellt.

Am 4. Tage sind die Flagellaten und Infusorien ebenso zahlreich vorhanden wie am 1. Tage des Versuchs. Die Reaktion des Panseninhaltes ist neutral. Das Tier bekommt auf die bereits angegebene Weise 500 ccm 6 proz. Essigsäure in den Pansen, als Nahrung Kartoffeln.

Am 5. Tage sind die Flagellaten und Infusorien schon wenig zahlreich, die Isotrichen behaupten sich vornehmlich noch. Der Bock erhält nur Kartoffeln und gekochtes Wasser, außerdem wieder 500 ccm 6 proz. Essigsäure.

6. Tag: Die Nahrung besteht in Kartoffeln und Rüben. Flagellaten und Infusorien spärlich; Reaktion neutral.

7. Tag: Vereinzelte Isotrichen und *Sphaerom. comm.* Reaktion alkalisch. 500 ccm 6 proz. Essigsäure.

8. Tag: Der Panseninhalt enthält keine lebenden Protozoen mehr. Reaktion alkalisch. Derselbe Befund ist an den darauffolgenden 12 Tagen zu konstatieren, an denen der Bock Kartoffeln, Rüben, Haferschrotsuppen und zuweilen rohe Eier erhält.

c) Ziege Nr. 8. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem rechten Schulterblatt. Der Versuch wird noch einmal wiederholt mit dem schnell eintretenden Erfolg, wie ihn die Ziege Nr. 6 gezeigt hat.

II. Versuchsreihe.

1. Versuche, um den Pansen dauernd protozoenfrei zu erhalten.

a) Fütterung mit gekochten Haferschrotsuppen.

α) Versuchstier Nr. 9. Weiße Ziege ohne Hörner. Nachdem der Panseninhalt auf direktem Wege, wie es in dem Versuch 3 der Versuchsreihe I gezeigt worden ist, protozoenfrei erhalten worden ist, bekommt das Tier 3mal täglich 1—2 l Haferschrotsuppen für die Zeit von 8 Tagen. Jeden Tag wird der Panseninhalt 1mal untersucht, er reagiert stets neutral oder schwach alkalisch und ist frei von Protozoen.

β) Versuchstier Nr. 10. Weiße Ziege ohne Hörner mit schwarzem Fleck an den Körperseiten. Der Panseninhalt ist protozoenfrei, reagiert neutral. Sie macht denselben Versuch wie die Ziege Nr. 9 durch, sie ist gewissermaßen das Kontrolltier. Sie erhält außer den Suppen noch rohes Brunnenwasser. An 8 darauffolgenden Tagen wird der Panseninhalt täglich untersucht, stets ist neutrale oder alkalische Reaktion vorhanden; keine Spur von lebenden Flagellaten und Infusorien.

b) Fütterung mit geschälten Mohrrüben, Kartoffeln und gekochtem und rohem Wasser.

α) Ziege Nr. 1. Große weiße Ziege mit übereinandergeschlagenen Hörnern. Der Panseninhalt ist protozoenfrei, reagiert neutral. Die Ziege bekommt 8 Tage hindurch die geschälten Rüben und Kartoffeln, daneben gekochtes Wasser. An jedem Tage wird der Panseninhalt untersucht, er hat eine grauweiße Farbe. Weiß und schaumig ist er von den Kartoffeln. Die Reaktion ist stets neutral oder alkalisch. Protozoen habe ich an keinem der 8 Versuchstage gefunden.

β) Ziege Nr. 2. Kontrolltier. Große weiße Ziege mit geraden Hörnern. Der Panseninhalt ist hier wieder protozoenfrei gemacht worden, er reagiert alkalisch. Die Ziege erhält geschälte Rüben und Kartoffeln mit rohem Brunnenwasser. Das Resultat ist genau dasselbe, wie es die Ziege Nr. 1 gezeigt hat, so daß ich mir das nochmalige Aufzeichnen des Versuchs ersparen kann.

c) Fütterung mit Leinkuchen und gekochtem und rohem Wasser.

α) Versuchstier Nr. 4. Kleine weiße Ziege. Der Panseninhalt ist protozoenfrei gemacht worden. Dieses Wort ist mir zu lang; auch GÜNTHER fühlte das heraus, er schlug dafür das Wort neutral vor.



Darunter kann man sich gar nichts denken; überdies ist die Reaktion des Panseninhaltes auch oft neutral, was angegeben werden muß, so daß dann ein Durcheinander herauskommt. Ich habe gemäß dem Wort aseptisch das Wort azoisch gewählt, ἄζῶα, frei von Tieren, das ich in Zukunft auch verwenden werde. Der Panseninhalt reagiert alkalisch. Die Ziege erhält 8 Tage hindurch Leinkuchensuppen und gekochtes Wasser. Der Panseninhalt wird jeden Tag untersucht; er hat eine bräunliche Farbe, reagiert neutral bis schwach alkalisch. Er ist während der genannten Zeit azoisch.

β) Versuchstier Nr. 6. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem Rücken, Kontrolltier.

Panseninhalt ist azoisch, Reaktion neutral. Der Ziege werden für die Zeit von 8 Tagen Suppen von demselben Leinkuchen gegeben wie im vorigen Versuch, jedoch mit dem Unterschiede, daß rohes Wasser als Trinkwasser verwendet wird. Der Erfolg ist derselbe wie im Versuch vorher.

d) Versuche mit desinfiziertem Heu und gekochtem Wasser.

Heu wird aus den verschiedensten, beliebigen Stellen eines Heubundes entnommen. Es wird gegen Abend in einem großen Kessel mit 0,5 proz. Essigsäure gekocht. — Daß Essigsäure in die Kapseln der Infusorien eindringt und den eingeschlossenen Protoplasmakörper tötet, ist eine alte Erfahrung. Fabre (36) hat eingehende Versuche über die Diffusion verschiedener Reagentien vorgenommen.

Der Kessel wird mit einem Deckel bedeckt, der durch Steine beschwert wird. Durch kleine Öffnungen kommen die überschüssigen Wasserdämpfe heraus. Das Heu kocht 1—1,75 Stunden; das Heuessigwasser wird abgegossen, das Heu mit gekochtem Wasser gut ausgewaschen, bis die saure Reaktion in die neutrale übergegangen ist. Das Heu wässert in dem gekochten Wasser die Nacht über. Am nächsten Morgen wird es auf sauberen Brettern zum Trocknen ausgebreitet. Es ist streng darauf zu achten, daß kein roher Heuhalm sich auf den Brettern befindet. Hat das Heu 1 Stunde lang gekocht, so ist das Aroma nur zum Teil verschwunden, hat das Heu dagegen 1,75 Stunden gekocht, so fehlt der aromatische Geruch völlig. Solches Heu wird von den Ziegen ungern genommen.

Versuchstier Nr. 7. Weißer Ziegenbock.

1. Tag: Der Inhalt des Pansens ist azoisch gemacht worden, er hat von der Kartoffelfütterung eine grauweiße Farbe, neutrale Reaktion. Man sieht nichts Grünes mehr, nur blasse Pflanzenteile, welche kein Chlorophyll mehr enthalten. Der Bock erhält 3 mal täglich gekochtes Wasser an diesem wie an den folgenden Tagen und Heu, das 1,75 Stunden lang in 0,5 proz. Essigsäure gekocht hat und in obiger Weise behandelt worden ist.

2. Tag: Der Inhalt des Pansens reagiert alkalisch, die Farbe hat schon einen grünen Ton angenommen. Keine Protozoen; eine große Anzahl zerstörter, geschrumpfter Kapseln.

3. Tag: Panseninhalt alkalisch, azoisch, von grünlicher Farbe.

Vom 4. bis 8. Tage wird der Inhalt stets 1 mal täglich untersucht, immer findet man alkalische Reaktion, grüne Farbe des Inhalts und denselben frei von Protozoen.

Ziege Nr. 8. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem rechten Schulterblatt. Sie ist das Kontrolltier. Der Panseninhalt ist azoisch, reagiert neutral. Die Ziege bekommt gekochtes Wasser und von dem Heubund, von dem Heu zur Desinfektion fortgenommen worden ist für den vorigen Versuch.

2. Tag: Panseninhalt reagiert alkalisch, wenig *Entodin. min.* und vereinzelte Flagellaten.

3. Tag: *Entodin. min.* und Diplodinien zu sehen, desgleichen Flagellaten.

4. Tag: Alle Species Flagellaten und Infusorien in reichlicher Zahl vorhanden.

e) Versuche mit desinfiziertem Heu und rohem Brunnenwasser.

Versuchstier Nr. 9. Weiße Ziege ohne Hörner.

1. Tag: Panseninhalt azoisch, Reaktion neutral. Die Ziege erhält 3 mal täglich für diesen und die nächsten Tage rohes Brunnenwasser und Heu, welches 1 Stunde lang mit 0,5 proz. Essigsäure gekocht und in der obigen Weise behandelt worden ist.

2. Tag: Panseninhalt azoisch, Reaktion alkalisch, geschrumpfte Kapseln.

3. Tag: Der Inhalt des Pansens ist azoisch, reagiert alkalisch.

Vom 4. bis zum 12. Versuchstage ist stets dasselbe Resultat zu verzeichnen; der Panseninhalt zeigt stets alkalische Reaktion und ist azoisch.

Versuchstier Nr. 10. Kontrolltier. Weiße Ziege ohne Hörner mit schwarzen Flecken auf den Körperseiten.

1. Tag: Panseninhalt azoisch, Reaktion neutral. Gekochtes Wasser und rohes Heu von dem Bund, von welchem ein Teil zur Desinfektion für den vorigen Versuch fortgenommen worden ist, wird verabreicht.

2. Tag: Reaktion des Panseninhaltes alkalisch. Einige *Entodin. min.*

3. Tag: Panseninhalt reagiert alkalisch, Entodinien, Diplodinien, Isotrichen und Flagellaten.

4. Tag: Alle Species Flagellaten und Infusorien in großer Zahl vertreten.

2. Die Versuche d und e

wurden 2 mal mit demselben Resultat wiederholt.

3. Versuche mit rohem Heu und gekochtem Wasser.

Sie sind in den Versuchen d und e als Kontrollversuche enthalten.

4. Versuche mit rohem Heu und rohem Brunnenwasser.

Diese Versuche haben dasselbe Resultat wie die eben genannten, also die Versuche Nr. 3.

5. Versuche mit Grünfutter und gekochtem Wasser.



6. Versuche mit Grünfutter und rohem Brunnenwasser.

Diese beiden Versuche will ich ebenfalls nicht aufzeichnen, sie haben denselben Gang wie die Versuche 3 und 4, auch dasselbe Resultat.

7. Versuche mit frischem Kuhdung von 10 Kühen.

Versuchstier Nr. 4. Kleine weiße Ziege.

1. Tag: Der Panseninhalt ist azoisch, er reagiert neutral, er hat eine weiße Farbe. Das Tier bekommt gekochtes Heu und Brunnenwasser.

2., 3. und 4. Tag: Die Ziege erhält während dieser Zeit 3 mal täglich gekochtes Heu und Brunnenwasser, der Panseninhalt wird alkalisch, er bleibt azoisch. Er besteht aus grünlicher Flüssigkeit, welche grüne, zerkaute und teilweise zersetzte Halme enthält.

5. Tag: Panseninhalt azoisch, reagiert alkalisch. Die Ziege bekommt frischen Kuhdung. Von 10 verschiedenen Kühen, welche mit Heu gefüttert worden sind, wird der frische Dung sauber gesammelt, d. h. bloß der obere Teil des Kuhfladen wird fortgenommen, welcher weder mit Stroh noch mit Heuhalmen in Berührung gekommen ist. Der Dung der verschiedenen Tiere wird gründlich vermischt. 2 l werden der Ziege mit dem Löffel in den Mund eingegeben. Daneben erhält sie desinfiziertes Heu.

6. Tag: Im Panseninhalt sieht man eine Anzahl toter *Diplodin. magii Fiorent.* und *Diplod. burs.*, aber keine lebenden Infusorien und Flagellaten. Die Ziege erhält wieder 2 l von dem Kuhdung, desinfiziertes Heu und Brunnenwasser.

7. Tag: Man sieht keine Flagellaten und Infusorien im 1. Präparat, das aus der Panseninhaltsprobe gemacht worden ist, nur ein einziges *Diplodinium burs.*, welches reichliches Grünes in seinem Innern hat. Es hat seine Wimperkränze nach innen knopfartig zusammengezogen und bewegt dieselben im Innern; auch Kapseln sind zu sehen.

8. Tag: Der Versuch wird abgebrochen, da das Tier zu schwach ist.

8. Versuch mit azoischem Panseninhalt vom Rind und frischem Kuhdung von 8 Kühen.

Versuchstier Nr. 6. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem Rücken.

1. Tag: Der Panseninhalt reagiert neutral und ist azoisch. Die Ziege bekommt eine Blechschüssel voll Panseninhalt vom Rind, welcher keine lebenden Protozoen enthält, mit dem Löffel eingegeben. Wenn der Panseninhalt zwischen die Backzähne geschoben wird, so kaut das Tier und schluckt herunter. Der Panseninhalt hat 1—2 Nächte ganz flach auf sauberen Brettern ausgebreitet bei einer Temperatur von 3° C gelegen, alle Flagellaten und Infusorien sind, wie man sich durch zahlreiche Untersuchungen überzeugen kann, abgestorben. Dieser Panseninhalt wird an den folgenden Tagen als Futter verabreicht. Man kann an demselben Tage auch sehen, wie die Ziege wiederkaut.

2. Tag: Der Panseninhalt der Ziege reagiert neutral, ist azoisch. Sie erhält mittags eine Schüssel neutral reagierenden Panseninhalt vom



Rind und 2 l Wasser in den Mund gegossen, da sie nicht trinken will. Abends erhält sie auch eine volle Schüssel Rinderpanseninhalt.

3. Tag: Die Panseninhaltsprobe der Ziege reagiert alkalisch, ist azoisch. Kapseln sind zu sehen; 1 Schüssel Panseninhalt.

4. Tag: Die Ziege kaut wieder; der Panseninhalt derselben zeigt alkalische Reaktion, keine Infusorien, dagegen Flagellaten und zwar *Sphaerom. max.*, *comm.* und *min.* Eine Schüssel Panseninhalt vom Rind, der neutral reagiert und nichts Lebendes aufweist, wird eingegeben.

5. Tag: Die Flagellaten sind vorhanden, aber keine Infusorien.

6. Tag: Flagellaten; keine Infusorien; Reaktion neutral. Ziege kaut wieder, der Panseninhalt zeigt grünliche, trübe Flüssigkeit und grüne zerquetschte und teilweise zersetzte Heuhalme.

7. Tag: Der Panseninhalt der Ziege ist neutral; Flagellaten vorhanden, dagegen keine Infusorien. Die Ziege erhält 1 l frischen, auf die obige Weise gewonnenen Kuhdung von 8 verschiedenen Kühen, welche 2 Wochen vorher täglich Heu erhalten haben. Die Ziege bekommt am Abend wieder 1 l von dem Kuhdung, sie nimmt ihn verhältnismäßig gut, bis sie genug davon hat.

8. Tag: Flagellaten vorhanden. Eine geringe Anzahl toter Entodinien. Die Reaktion ist neutral. Die Ziege bekommt früh und abends je 1 l Kuhdung.

9. Tag: Man sieht eine große Anzahl toter Isotrichen, Entodinien und Diplodinien. Das Ectoplasma der beiden letzteren Gattungen ist deutlich gekästelt; eine geringe Anzahl Flagellaten.

10. Tag: Die Panseninhaltsprobe reagiert neutral, die Flagellaten sind verschwunden, nur noch tote Infusorien sind zu sehen. Die Ziege bekommt Haferschrotsuppen und Rüben. Am 11., 12. und 13. Tage ist die Reaktion stets neutral, nichts Lebendes mehr zu sehen.

9. Versuch mit azoischem Panseninhalt vom Schaf.

Versuchstier Nr. 7. Weißer Ziegenbock.

1. Tag: Panseninhalt azoisch, reagiert neutral. Der Bock erhält den 3. Teil des Panseninhaltes eines Schafes, welcher keine lebenden Protozoen enthält. Die Behandlung desselben wie oben. An demselben Abend bekommt er das 2. Drittel des Panseninhalts, dessen Reaktion neutral ist.

2. Tag: —

3. Tag: Er bekommt das letzte Drittel Panseninhalt vom Schaf. In der Panseninhaltsprobe sind keine Protozoen nachzuweisen. Reaktion alkalisch. Infusorienkapseln sind zu sehen.

4. Tag: Keine Flagellaten; wenig tote Entodinien und in einem Präparat 2 lebende *Entodin. min.* Sie haben aber wenig Grünes im Innern.

5. Tag: Rübenfütterung und Kartoffeln.

6. und 7. Tag: Die Panseninhaltsprobe enthält keine lebenden Protozoen mehr; Reaktion neutral.

10. Versuch mit getrocknetem, mehrere Monate altem Rinderdung und desinfiziertem Heu.

Diesen Versuch habe ich darum gemacht, weil RHUMBLER (37) angibt, daß die Colpoden infolge langsamen Eintrocknens Dauercysten bilden.



Versuchstier Nr. 8. Weiße Ziege mit schwarzem Fleck auf dem rechten Schulterblatt.

1. Tag: Der Panseninhalt reagiert neutral, er hat eine grauweiße Farbe von der Kartoffelfütterung. Es sind keine Infusorien vorhanden, wohl aber vereinzelte Flagellaten. Das Tier erhält 3 mal täglich desinfiziertes Heu und Wasser ebenso wie für die folgenden Tage des Versuchs.

2. Tag: Panseninhalt alkalisch, hat eine grünliche Farbe, keine Infusorien, dagegen Flagellaten in großer Menge.

4. und 5. Tag: Derselbe Befund wie am 3. Tage.

6. Tag: Panseninhalt alkalisch, grünliche Farbe, keine Infusorien, dagegen reichlich Flagellaten. Die Ziege bekommt nur getrockneten Rinderdung und 3 mal täglich Wasser. Der Rinderdung ist 5 – 6 Monate alt. Die Kuhfladen haben eingetrocknet auf einer Wiese gelegen, wo im Frühjahr und Anfang des Sommers Rinder geweidet haben. Die Kuhfladen werden gesammelt, jeder einzelne streng untersucht, ob er Heu oder Grashalme enthält, welche sofort entfernt werden. Der Dung wird mit warmem Wasser angerührt und löffelweise in den Mund eingegeben.

7. Tag: Der Panseninhalt hat eine schwarzbraune Farbe angenommen, die Reaktion ist neutral, keine Infusorien. Die Flagellaten, welche am vorigen Tage noch reichlich vorhanden waren, sind heute plötzlich verschwunden, kein einziges ist trotz aufmerksamen Suchens nachzuweisen. Die Ziege erhält heute desinfiziertes Heu und 3 mal täglich Kuhdung in reichlicher Menge.

8. und 9. Tag: Die Ziege bekommt kein desinfiziertes Heu mehr, sie muß hungern; sie erhält nur noch 3 mal täglich Kuhdung. Der Panseninhalt, welcher an beiden Tagen untersucht wird, ist vollständig azoisch, ebenso am 10. und 11. Tage.

Der Versuch wird abgebrochen.

Ziege Nr. 9. Kontrolltier.

1. Tag: Der Panseninhalt reagiert neutral, ist azoisch. Die Ziege bekommt von dem desinfizierten Heu, welches die vorige, also Versuchstier Nr. 8, erhalten hat, und Wasser.

2. Tag: Panseninhalt alkalisch, azoisch.

Am 3. bis 11. Tage dasselbe Resultat. Damit ist bewiesen, daß die vorhergehende Ziege Nr. 8 auch wirklich desinfiziertes Heu, welches azoisch war, erhalten hat, daß nicht etwa die zahlreicher auftretenden Flagellaten auf das Heu zurückzuführen sind.

11. Versuch, um eine Infektion von Tier auf Tier hervorzurufen.

Ziege Nr. 2.

1. Tag: Panseninhalt neutral, azoisch. Die Ziege bekommt 3 mal täglich desinfiziertes Heu und Brunnenwasser für diesen und alle folgenden Tage des Versuchs.

Versuchstier Nr. 7. Weißer Ziegenbock. Der Panseninhalt reagiert alkalisch, er besteht aus grünlichen zerkauten und teilweise zersetzten Heuhalmen; Infusorien und Flagellaten in großer Zahl und Mannigfaltigkeit vorhanden. Er bekommt 3 mal täglich rohes Wiesenheu und Wasser für diesen wie die folgenden Tage des Versuchs. Der Ziegenbock



wird in den Zwischenzeiten zwischen den 3 Mahlzeiten zur Ziege Nr. 2 gesetzt. Es wird nur darauf geachtet, daß sein Haarkleid, das sehr dicht ist, keine Heuhalme enthält. Die beiden Tiere befinden sich gerade in der Brunst. Sie beriechen sich, beknabbern sich; die Ziege reißt dem Bock hin und wieder Haare aus dem Fell. Während der Mahlzeiten werden die Tiere wieder getrennt.

2. Tag: Ziege Nr. 2. Panseninhalt alkalisch, azoisch.

Weißer Ziegenbock. Panseninhalt alkalisch, Protozoen zahlreich.

Vom 3. bis 10. Tage dasselbe Resultat.

Dieser Versuch wie auch alle vorhergehenden werden 2 mal wiederholt.

12. Versuch, der zeigt, daß die Protozoen bei eintretendem Heumangel von selbst zugrunde gehen.

Versuchstier Nr. 1. Große weiße, äußerst kräftige Ziege mit übereinander geschlagenen Hörnern.

1. Tag: Der Panseninhalt reagiert alkalisch, alle Species von lebenden Flagellaten und Infusorien sind vorhanden. Die Ziege bekommt für die ganze Dauer des Versuchs kein Heu, nur Kartoffeln, Rüben, Leinkuchensuppen, zuweilen rohe Eier und hin und wieder Nährklystiere.

2. bis 17. Tag: Flagellaten und Infusorien sind noch vorhanden, am 17. Tage sind bedeutend weniger Infusorien nachzuweisen. Der Panseninhalt hat nicht mehr die grüne Farbe, sie ist fast völlig ausgelaugt, die Heuhalme haben ein mehr blasses, strohgelbes Aussehen. Wenige Diplodinien sind mit Stärkekörnern angefüllt. Der Kot der Ziege hat eine weißlich-graue bis schmutzig-gelbe Farbe, er ist nicht klein geballt, wie er für die Ziege charakteristisch ist, sondern hat die Konsistenz des Hundekotes. Die Ziege ist munter, sie nimmt ihre Suppen gern. Da sie aber kein Rauhfutter bekommt, so benagt sie fortwährend das Holz ihres Käfigs.

18. Tag: Der Panseninhalt hat eine grauweiße Farbe, schaumige Beschaffenheit. Man sieht lauter tote Entodinien, Diplodinien, Ophryoscoleciden, dagegen sind noch lebende Isotrichen und zahlreiche Flagellaten vorhanden.

20. Tag: Wenig Isotrichen, zahlreiche Flagellaten.

23. Tag: Keine Infusorien, nur Flagellaten. Der Panseninhalt enthält nur noch blasse Strohteile. Die Ziege bekommt kein Wasser, weil sonst sofort Durchfall eintritt, daher nur Leinkuchensuppen und Kartoffeln.

26. Tag: Keine Infusorien, einige seltene Flagellaten. Panseninhalt neutrale Reaktion, hat eine grauweiße Farbe, ein schaumiges Aussehen.

32. Tag: Keine Infusorien, keine Flagellaten.

35. Tag: Keine Infusorien, keine Flagellaten. Der Panseninhalt hat eine neutrale Reaktion. Der Versuch wird abgebrochen. Die Ziege erhält wieder rohes Heu und Wasser, worauf sie sich zuerst mit großer Begierde stürzt. Sie hat aufgehört ihren Holzkäfig zu beknappern. Erst am 4. Tage der Heufütterung wird der hundeähnliche grauweiße bis graugelbliche weiche resp. dünnflüssige Kot wieder ziegenähnlich, d. h. die ersten Kaffeebohnen treten auf. Die Ziege ist durch den Versuch sehr schwach und ganz mager geworden. Sie entwickelt aber einen guten Appetit, so daß sie sich nach einigen Wochen wieder völlig erholt hat.

III. Versuchsreihe.

Versuche mit totem Material.

Voraus bemerken will ich, daß das Heu, welches zu den nachstehenden Versuchen verwandt wird, stets durch Ziegenversuche in der oben mehrfach angegebenen Weise kontrolliert wird, ob es infektiös ist; nur solches wird zu den Versuchen verwendet.

1. Infus aus zerkleinertem Heu mit Brunnenwasser bei Zimmertemperatur. Nach 4 Tagen *Colpidium colpoda*, nach 14 Tagen Flagellaten und zwar *Cercomonas termo* STEIN (13) und *Oikomonas termo* EHRENBERG (20).

2. Infus mit zerkleinertem Heu und Brunnenwasser bei einer Temperatur von 37° C. Das Infus wird täglich untersucht; am 14. Tage sieht man Flagellaten und zwar *Cercomonas* STEIN, *Oikomonas termo* EHRENBERG und *Bodo saltans* EHRENBERG. Die Colpidien sind nicht aufgetreten.

3. a) 1. Tag: Bei diesem Versuch wie bei den folgenden wird Heu mit der Kaffeemühle gemahlen, nachdem es zuvor mit der Schere in kurze Stücke geschnitten worden ist. Dann wird soviel Menschenspeichel zugesetzt, bis alles gut eingespeichelt ist, und darauf Wasser gegossen. Das Glasgefäß wird in dickes Papier eingeschlagen, damit der Inhalt im Dunklen bleibt. Einige kleine Luftlöcher werden in die Decke gemacht, damit die überflüssigen Gase, welche sich im Glasgefäß befinden, heraus können ähnlich wie beim Aufstoßen der Wiederkäuer. Nun wird das Glasgefäß mit seinem Inhalt in den Brutofen bei 37° C gestellt.

2., 3., 4. und 5. Tag: Alkalische bis neutrale Reaktion. Die Infusionsflüssigkeit ist trübe geworden, das Heu zeigt aber noch keine Zeichen der Zersetzung. Außer Bacterien und Schimmelpilzen, *Mucor Rhizopodiformis*, nichts Lebendes zu sehen.

Am 6. und 7. Tage ist die Reaktion sauer. Weder lebende noch tote Flagellaten oder Infusorien.

b) Derselbe Versuch wird wiederholt mit der Modifikation, daß die Glasschalen keine Luftlöcher enthalten. Das Resultat ist auch negativ.

c) Versuch Nr. 3 wird noch einmal wiederholt, indem das in Stücke geschnittene Heu mit filtriertem Speichel versetzt, dann erst durch die Mühle getrieben und schließlich noch einmal eingespeichelt wird. Jetzt erst wird Wasser zugesetzt und die eingepackte Glasschale in den Brutofen gestellt. Der Verlauf des Versuches ist so wie bei a; Resultat negativ.

4. Zerkleinertes und gemahlenes Heu wird mit Pferdespeichel versetzt. Der Mund des Pferdes wird mit verdünnter Essigsäure ausgespült, daraut mit Wasser neutralisiert. Das Pferd erhält 0,08 Arecolinum hydrobromicum subkutan. Der Speichel wird in einer aseptischen Schale aufgefangen.

a) 1. Tag: Das auf oben angegebene Weise zubereitete Heu wird mit Wasser versetzt, die Glasschale wieder mit Papier eingewickelt. Luftlöcher sind in der Decke der Schale. Sie wird in den Brutofen gesetzt.

2. und 3. Tag: Reaktion alkalisch, außer Bacterien und Schimmelpilzen nichts Lebendes.

4. Tag: Reaktion neutral, keine Flagellaten und Infusorien.

5. Tag: Reaktion sauer, außer Bacterien und *Mucor Rhizopodiformis* nichts Lebendes.

b) Derselbe Versuch wird in der Weise wiederholt, daß die Decke der Glasschale keine Luftlöcher enthält. Resultat negativ.

c) Das Heu wird in Stücke geschnitten, mit filtriertem Pferdespeichel versehen und feucht durch die Mühle getrieben. Dann in der beschriebenen Weise weiter behandelt und in den Brutofen gestellt. Der Verlauf des Versuchs ist ähnlich dem Versuch **a**; der Erfolg negativ.

5. Der Versuch 4 wird in seinen 3 Teilen a, b und c wiederholt, jedoch mit dem Unterschied, daß ich anstatt Pferdespeichel jetzt Parotidenspeichel von der Ziege dem Heu hinzusetze.

Der Ziege Nr. 10, weiße Ziege ohne Hörner mit schwarzen Flecken an den Körperseiten, wird die Haut über dem rechten Masseter rasiert und desinfiziert. Nach Schmaltz (38) verläuft der Ductus parotideus bei der Ziege nicht wie beim Pferde am vorderen Rande des Masseter mit der Arteria et vena maxillaris ext. zusammen, sondern er läuft ganz allein quer über den Masseter. Es wird daher ein schräger, nach unten verlaufender Hautschnitt angelegt, der Kanal frei präpariert und eine Speichelfistel angelegt. Der Speichel wird während der Futteraufnahme des Tieres in einem breiten aseptischen Gefäß aufgefangen. Der Verlauf des Versuchs 5 mit seinen 3 Einzelversuchen ist wieder ein ganz ähnlicher wie der des Versuchs 4. In den ersten Tagen ist die Reaktion alkalisch, wird dann neutral, schließlich ist sie am 4. resp. 5. oder 6. Tage sauer. Während dieser Zeit sind weder Infusorien noch Flagellaten aufgetreten.

6. Der auf oben beschriebene Weise gewonnene Parotidenspeichel wird mit in Stücke geschnittenem Heu versetzt und zwischen 2 Steinen mit rauhen Reibeflächen zerquetscht. Während des Mahlens wird stets noch etwas Speichel hinzugesetzt. Das auf diese Weise zubereitete Heu wird in ein Glas mit warmem Wasser in den Brutofen getan. Der Versuch zerfällt in 2 Unterabteilungen, indem das eine Mal das Glasgefäß vollständig in dickes Papier eingewickelt ist, das andere Mal in der Decke Luftlöcher zum Austausch der Gase sich befinden. Der Verlauf des Versuchs ist wie der von Versuch 5. Resultat negativ.

7. a) Das zwischen den Steinen zerquetschte und mit Ziegenspeichel eingespeichelte Heu wird anstatt mit Wasser mit Pansenflüssigkeit vom Rind, welche auf folgende Weise präpariert ist, versetzt: Die Pansenflüssigkeit wird filtriert. Da die Flagellaten durch das Filter hindurchgehen, werden sie auf eine Temperatur von 5° C gebracht. Alle Protozoen sind, wie die Untersuchung ergibt, tot. Der Versuch verläuft wieder so wie der vorhergehende; Resultat negativ.

b) Versuch a wird in der Weise abgeändert, daß das Heu beim Zerquetschen zwischen den Steinen nicht mit Ziegenspeichel, sondern schon mit der oben beschriebenen modifizierten Pansenflüssigkeit versetzt wird. Das so zerquetschte Heu wird jetzt ebenfalls mit weiterer Pansenflüssigkeit übergossen und in den Brutofen gestellt. Resultat negativ.

8. Einer Kuh vom Schlage des Schwyzer Braunviehes wird der Mund mit verdünnter Essigsäure ausgespült, darauf mit Wasser, dem eine Spur Natrium bicarbonicum hinzugesetzt worden ist, neutralisiert. Der Kuh wird Heu vorgelegt. Nachdem sie es vollständig gekaut hat, wird der Mund vom Melcher geöffnet und der Bissen aus dem Pharynx geholt. Die Kuh macht 18—20—24 Kaubewegungen bis zum Herunterschlucken des Bissens. Das auf diese Weise gekaute und mit Speichel versetzte Heu wird in ein bereitgehaltenes Gefäß mit Wasser, das eine Temperatur von 37° C hat, getan. Das Gefäß wird vor der Abkühlung durch ein dickes Tuch geschützt. Das Gefäß wird in den Brutofen gestellt, nachdem es in dickes Papier eingepackt worden ist; keine Luftlöcher, ein anderes Gefäß mit solchen. Der Verlauf auch dieses Versuchs bringt nichts Neues, das Resultat ist negativ.

a) Rectalinhalt vom Schaf mit Wasser bei gewöhnlicher Temperatur. Nach 4 Tagen *Colpidium colpoda* und Teilungsstadien derselben.

10. Rectalinhalt vom Schaf und Wasser bei Bruttemperatur. In den ersten 14 Tagen keine Protozoen zu sehen, schließlich treten Flagellaten auf, *Cercomonas termo* STEIN.

Beiläufig will ich bemerken, daß die Versuche in der Zeit vom 1. August bis 30. Dezember 1904 ausgeführt worden sind.

Schon wiederholt habe ich von Kapseln gesprochen, ohne eine nähere Begründung zu geben. Jetzt am Ende der Versuche will ich in eine nähere Erörterung derselben eintreten. Die saprophytischen Flagellaten und Infusorien kapseln sich ein, wenn plötzlich ungünstige Lebensbedingungen eintreten. Der Protoplasmakörper schrumpft zusammen, verliert den größten Teil seines Wassers, umgibt sich mit einer festen, gegen äußere schädliche Einflüsse widerstandsfähigen Hülle und trägt auf diese Weise dazu bei, seine Art zu erhalten.

Wie liegen diese Verhältnisse bei den parasitischen Flagellaten und Infusorien des Wiederkäuermagens?

Wenn sich Infusorien einkapseln, so müssen Veränderungen ihrer Gestalt einhergehen, die Cilien müssen verschwinden, der Körper wird unbeweglich, er zieht sich, soweit es geht, zusammen, die contractilen Vacuolen verschwinden; bei einigen Arten werden alle Excretkörner ausgestoßen, bei anderen bleiben dagegen noch Futterpartikelchen im Leibe, alles Vorgänge, welche längst bekannt und

in dem Werke von Bütschli (16) über Infusorien bis in alle Feinheiten erklärt sind. Diese Tatsachen geben uns den Schlüssel für die Untersuchungen, welche hier in Frage kommen.

Läßt man die warme Pansenflüssigkeit auf dem Objektträger langsam eintrocknen, so sieht man, wie die Infusorien und Flagellaten langsam absterben. Die Flagellaten werfen die Geißel ab oder rollen sie auf, der Protoplasmakörper wird unbeweglich. Die Infusorien schwimmen langsamer und langsamer, ziehen, wenn es sich um die Gattungen *Ophryoscolex* und *Entodinium* handelt, ihr Peristom, oder wenn es sich um die Gattung *Diplodinium* handelt, ihre beiden Peristome nach dem Innern des Körpers ein, so daß ein sphincterartiger Verschluß eintritt, wie ihn Eberlein bis in alle Einzelheiten genau schildert. Die Cilien schlagen noch im Innern des Tierkörpers, die Bewegungen werden aber immer langsamer, bis sie schließlich ganz aufhören.

Die Isotrichen ziehen sich der Regel nach zur Kugel zusammen: man sieht zunächst noch die Cilien, in späteren Stadien sind auch sie verschwunden. In diesem Stadium kann man die einzelnen Gattungen und Species noch ganz gut erkennen. Auf einem späteren Stadium kann man nicht mehr nachweisen, ob es sich z. B. um ein *Entodinium* oder ein *Diplodinium* handelt, man sieht nicht mehr die beiden oder den einen Sphincter, sondern einen gleichmäßigen breiten, durchsichtigen Rand, der zuweilen eine netzartige Zeichnung aufweist, hin und wieder aber glasig, durchsichtig ist und dem Ectoplasma entspricht. Diese glasartige Schicht umzieht den ganzen Körper. Daß es sich hier aber um ein *Diplodinium* oder *Entodinium* handelt, kann man noch am Kern, an der Schlundunterstützung, an den Vacuolen, welche z. T. noch vorhanden sind, und besonders am Hinterende des Körpers erkennen, z. B. am Schwanz. Auf einem weiteren Stadium ist dann auch dieser verschwunden, die Veränderung des Körpers ist noch weiter vorgeschritten, so daß man Gebilde sieht von der Größe der Infusorien z. B. des *Entodinium rostratum*. Das eine Ende, welches wohl dem Vorderende entspricht, ist breit, es verschmälert sich allmählich gegen das Hinterende. An diesen Gebilden kann man 2 Zonen unterscheiden, eine durchsichtige, glasartige, helle, farblose oder leicht gelblich gefärbte Außenzone und eine grünlich bis grünlichgelb gefärbte körnige, unregelmäßige Innenzone, welche das Aussehen von eingetrocknetem Protoplasma hat. Diese Gebilde hat man sich als rundliche, langgestreckte, eingetrocknete protoplasmatische Körper zu denken, welche von einer dicken, durchsichtigen, glasartigen Hülle eingeschlossen sind. Bei

einigen derartigen Kapseln kann man sehen, wie an dem einen Ende die Hülle gesprengt ist und der protoplasmatische Innenkörper herausquillt. Manche Gebilde, welche ich vorläufig mit dem Namen Kapseln (Cysten) belegen will, zeigen ein nicht so einfaches Aussehen. Sie weisen ein helles breites Querband auf, das von der linken zur rechten Seite verläuft. Dieses mikroskopische Bild kommt wohl dadurch zustande, daß das Protoplasma an diesen Stellen fehlt. Die Cysten haben nicht etwa die gleiche Größe und das gleiche Aussehen, sondern sie sind in Größe und Form verschieden; freilich ist der Grundplan des Baues dieser Gebilde stets derselbe. Es gibt kuglige kleine Cysten, welche einen Durchmesser von 10—14 μ haben, sie bestehen aus einem grünen, trocknen protoplasmatischen Innenkörper und einer glasartigen, durchsichtigen, nicht gefärbten, breiten Hülle. Diese Cysten werden ihrer geringen Größe nach den kleinsten Infusorien entsprechen. Andere sind ebenfalls kuglig; sie sind aber größer, die glasartige Hülle ist entsprechend breiter, die Breite dieser Schicht beträgt ca. 4 μ. Der Gesamtdurchmesser 20 μ. Die Gestalt kann auch mehr länglich sein, dabei zeigen die beiden Enden eine ziemlich gleichmäßige Breite und sind abgerundet Der Längsdurchmesser beträgt ca. 40 μ, der Querdurchmesser 23 μ. Es gibt auch Cysten von 56 μ Länge und 39 μ Breite. Die Gestalt kann schließlich noch mehr modifiziert sein. Das eine Ende ist breit, das andere mehr zugespitzt; die Länge dieser beträgt ca. 49 μ, die größte Breite 23 μ. Ich habe hier nur einige Zahlen herausgegriffen.

Das allmähliche Absterben der Infusorien kann man in jeder frischen Pansenflüssigkeit sehen. Die Übergangsform, welche schließlich zu den kapselartigen Gebilden führte, sah ich dagegen sehr schön in dem Panseninhalt von 3 Ziegen, welche im Alter von 5—7 Monaten waren. Sie hatten, bevor sie in meinen Besitz übergegangen waren, Grünfutter bekommen. Sie befanden sich in mäßigem Nährzustande. In dem Panseninhalt, welcher alkalisch reagierte, waren nur tote Infusorien nachzuweisen resp. die besprochenen Übergangsformen und schließlich eine große Anzahl der genannten kapselartigen Gebilde.

Außerdem sah ich noch eine ganz andere Art von Cysten. Sie waren kugelrund, der Durchmesser betrug 5—7 μ. Die Hülle war sehr dünn und glasartig durchsichtig. Diese Cysten hatten im Innern eine größere Anzahl rundlicher bis ovaler 1 μ großer Gebilde, Sporen. Andere Cysten hatten eine Länge von 8 μ. Sie waren von ovaler Gestalt, die Hülle war wieder glasartig durchsichtig und sehr

dünn, im Innern befanden sich eine größere Anzahl ovaler 1 μ großer Sporen. Es kamen auch runde und ovale schwarzbraune Gebilde vor von derselben Größe und Gestalt wie die oben genannten, jedoch waren diese völlig undurchsichtig und ließen ihr Inneres nicht erkennen. Die durchsichtigen Gebilde bezeichne ich mit dem Namen Entocysten, die undurchsichtigen, welche auf den durchsichtigen aufgelagert sind, als Ectocysten (16).

Die Tierversuche haben zu dem Resultate geführt. daß das Heu die Infektionsquelle darstellt. Wir müssen daher jetzt unsere Aufmerksamkeit diesem schenken und es einer genauen Untersuchung unterziehen. Es tritt jedoch sofort eine Schwierigkeit auf, weil sich das Heu nicht ohne weiteres mit dem Mikroskop untersuchen läßt. Ich habe daher infektiöses Heu in Stücke geschnitten, mit Menschenspeichel und Wasser versetzt und es wochenlang stehen lassen, bis eine Fäulnis und teilweise Zersetzung eingetreten war. Man sieht jetzt eine große Anzahl derselben Gebilde, wie wir sie in dem Panseninhalt der 3 Ziegen gesehen haben. Dasselbe Aussehen, dieselbe Größe, dieselbe Verschiedenheit in Größe und Gestalt. An den Konturen kann man sogar erkennen, daß die eine Kapsel wahrscheinlich ein *Diplodinium*, die andere dagegen ein *Entodinium* einschließt, weil sie eine große Ähnlichkeit mit den Übergangsformen, an denen man die Zugehörigkeit zu den Infusorien noch erkennen kann, haben. Die kleinen kugligen dagegen, welche eine Größe von 10—14 μ haben, scheinen die kleinsten Infusorien, z. B. *Entodinium*, einzuschließen. Diese sind in dichtgedrängten Lagen zahlreich anzutreffen. Die vorhergehenden sind dagegen viel seltener. Eine neue Tatsache kommt hier aber noch hinzu. Man sieht außer den Cysten, die einen eingetrockneten Protoplasmakörper haben, der gelblich oder bräunlich ist, und eine glasartige breite Hülle, solche von derselben Größe und Gestalt, nur das Aussehen ist verschieden. Hier ist die Außenzone nicht glasartig durchsichtig sondern schwarzbraun, die Innenzone tief dunkelbraun, beide Zonen sind aber auch hier deutlich zu unterscheiden. Es ist hier also eine schwarzbraune Schicht auf der ausführlich beschriebenen Cyste aufgelagert. Wir wollen die glasartige Cyste mit dem Namen Entocyste belegen, die schwarzbraune dagegen Ectocyste nennen (16).

Jetzt drängt sich die Frage auf: Woraus bestehen die Cysten?

1. Untersuchung auf Cellulose.

Die Cysten werden mit Kongorot gefärbt; dieses färbt die Wand einer Pflanzenzelle rot (39). Hier tritt keine Färbung der Kapsel ein, dagegen hat sich der centrale Protoplasmakörper tiefrot gefärbt. Da man keine Öffnung an der Kapsel nachweisen kann, auch keine größeren Kanäle, so müssen kleinste Kanälchen vorhanden sein, welche die Flüssigkeit mit der Farbe durchlassen.

Chlorzinkjod (39) färbt den Centralkörper braun, dagegen nicht die Kapsel, sie bleibt glasig.

Kupferoxydammoniak (39) lasse ich 24—48 Stunden einwirken. Während die Cellulosehüllen von Pflanzenteilen gelöst sind, bleiben die Kapseln unverändert.

2. Untersuchung auf Chitin.

Die Kapseln werden 4 Tage lang mit konzentrierter Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure und 33 proz. Kalilauge behandelt. Die Untersuchung am 5. Tage zeigt, daß alle Kapseln noch gut erhalten sind, daß die, welche in der Schwefelsäure gelegen haben, eine Schwarzfärbung zeigen. Nach HOFFMANN (25) lösen konzentrierte Säuren Chitin unter Zersetzung auf. Eine solche ist trotz mehrfacher Wiederholung des Experiments nicht eingetreten. Nach C. VAN WISSELINGH (28) wird Chitin durch Erhitzen mit konzentrierter Kalilauge auf 160° C schnell in Mycosin übergeführt, welches sich mit Jod-Schwefelsäure rötlich violett färbt. Er sagt, daß mit verdünnter Kalilauge das Chitin nur sehr langsam in Mycosin übergeführt wird. Ich habe die Kapseln 2—3 Tage in 33 proz. Kalilauge gelegt, dann Jod + Schwefelsäure nach der Methode WISSELINGH zugesetzt, ohne jedoch eine Färbung der Kapseln zu erhalten.

3. Untersuchung auf Kieselsäure (Kieselsäureanhydrid).

Das Kieselsäureanhydrid findet sich in Pflanzen und besonders in Gräsern. Es ist nach PINNER (26) und ARNOLD (27) unlöslich in Wasser und allen Säuren und wird nur durch Fluorwasserstoffsäure zersetzt. Der Objektträger wird zum Schutz mit einer dünnen Paraffinschicht überzogen, einige Kapseln werden darauf getan und ein Tropfen Fluorwasserstoffsäure hinzugesetzt. Die Kapseln zerfallen nach wenigen Sekunden zu einem Häufchen kleiner Körner. Danach besteht die Entocyste, welche dem Ectoplasma der Infusorien entspricht, aus Kieselsäure; das Entoplasma ist der Innenkörper.

Der strikte Beweis, daß die von mir gefundenen Cysten die eingekapselten parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens sind, müßte dadurch geführt werden, daß man aus den einzelnen Kapseln die verschiedenen Infusorien züchtete. Da es aber bisher noch nicht gelungen ist, einen geeigneten Nährboden zur Züchtung zu finden, so mußte ich mir dieses Endglied der Untersuchungskette versagen. Ich glaube aber, daß die im Pansen der 3 Ziegen gefundenen Übergangsformen deutlich genug darauf hinweisen, daß es sich hier tatsächlich um die Kapseln der parasitischen Infusorien des Wiederkäuermagens handelt. Die verschiedene

Größe und Gestalt der Kapseln gibt uns an, daß jede Infusorienspecies ihre eigenen Kapseln von bestimmter Größe und Form hat.

Differentialdiagnostisch können die Kapseln von *Colpidium colpoda* in Betracht kommen, weil sie sich auch im Heu befinden und mit diesen in den Pansen hineinkommen. Sie sind aber auf den ersten Blick von den von mir entdeckten zu unterscheiden. Die Colpidiumcysten sind zwar der Regel nach ebenfalls kuglig, die Membran erscheint aber unter dem Mikroskop entweder einfach, doppelt oder dreifach konturiert. Die Farbe ist gleichmäßig über die ganze Kapsel verteilt, sie ist gelblich, gelblichgrün oder gelblichbraun. Ist eine zweifache Cyste vorhanden, so liegen die beiden Cysten eng aneinander, ist die Cyste dagegen dreifach, so liegen die beiden äußeren Cysten eng aneinander, dagegen ist die 3., innerste, etwas weiter von den beiden ersten entfernt. An einem Pol ist eine kreisförmige Öffnung, welche zuweilen einen sternartigen Verschluß zeigt.

Die von GÜNTHER beschriebenen Sporen von Schimmelpilzen kommen hier schon wegen ihrer geringen Größe nicht in Frage. Da aber die oben beschriebenen Flagellatenkapseln ungefähr dieselbe Größe haben wie die Pilzsporen, so muß ich sie hier berücksichtigen. Sie sind ebenfalls sofort von den Flagellatenkapseln zu unterscheiden; sie sind entweder grünlich bis gelblich oder braun. Die grünen sind einfach, die braunen doppelt konturiert. Die Farbe ist gleichmäßig über die ganze Kapsel verteilt.

Jetzt erst können wir den Vorgang der Desinfektion des Heus verstehen. Die Ectocyste, welche für jede Flüssigkeit undurchgängig ist, wird gelöst, jedenfalls von der Entocyste entfernt. Jetzt dringt die Essigsäure durch die feinen Kanälchen der Entocyste ein und tötet den eingetrockneten Protoplasmakörper.

A u s d e r V e r s u c h s r e i h e I geht hervor, daß es mir nach der Methode GÜNTHER (34) nicht gelungen ist, den Pansen von älteren Ziegen, von 5—9 Monate alten, zu desinfizieren. Die von mir zuerst angewandte Methode zur Desinfektion des Pansens mit 6proz. Essigsäure vermittels der Schlundsonde ist zweifelhaft und für das Versuchstier gefährlich. Die direkte Desinfektion mit 6 Proz. Essigsäure vermittelst der Pansenkanüle, welche von mir ebenfalls zum ersten Mal angewandt wurde, ist am besten geeignet; sie ist am schnellsten wirksam und bei aseptischem Vorgehen auch ungefährlich. Die Menge der Essigsäure richtet sich nach der Größe des Pansens. 0,5proz. Essigsäure tötet die Protozoen sofort ab,

es genügt aber eine noch schwächere Konzentration, um den Tod herbeizuführen.

Aus den Versuchen der II. Versuchsreihe können wir folgendes entnehmen:

Verfütterung von Leinkuchen, Mohrrüben und Kartoffeln ergibt einen Panseninhalt, welcher eine neutrale oder alkalische Reaktion hat und azoisch bleibt. Günther hat als erster diese Versuche für Infusorien angestellt. Ich habe die gekochten Haferschrotsuppen hinzugefügt als ebensolchen Nährboden wie die Leinkuchensuppen, außerdem noch das desinfizierte Heu. Die Leinkuchen, Rüben, Kartoffeln und Haferschrotsuppen schaffen nur eine neutrale oder alkalische Reaktion. Damit ist uns aber noch gar nichts geholfen; denn diese Nährböden sind für die Existenz der parasitischen Protozoen, wie der Versuch 12 zeigt, ungeeignet, ja geradezu schädlich. Das desinfizierte Heu dagegen dürfte einen geeigneten Nährboden darstellen, indem neben der neutralen resp. alkalischen Reaktion zugleich die für die Protozoen nötigen Nährstoffe vorhanden sind, was z. B. aus dem 1. Teil des Versuchs 8 hervorgeht und aus dem Versuch 7, wenn auch undeutlich, indem ich im ersten Präparat der Panseninhaltsprobe nur ein lebendes *Diplodinium bursa* gefunden habe. Ich gebe natürlich zu, daß durch das Kochen und die 0,5 proz. Essigsäure die Eiweißkörper coaguliert, die leicht löslichen, wie z. B. die Albumine in Lösung übergegangen, desgleichen die anorganischen und organischen Salze z. T. ausgelaugt worden sind. Die physiologische Veränderung ist aber noch nicht so groß, daß das Heu als Nahrung für die Protozoen ungeeignet geworden ist.

Günther hat als erster Wiederkäuermastdarminhalt seinen Versuchsziegen eingeben lassen, dabei natürlich ein negatives Resultat erhalten. Er gab der Ziege Eier und Leinkuchen; die Reaktion des Panseninhalts war alkalisch. Günther muß sich daher vorgestellt haben, denn er hat doch, bevor er den Versuch gemacht hat, geglaubt, daß auf diese Weise die Infektion möglich ist, sonst hätte er den Versuch doch nicht gemacht, daß die alkalische Reaktion allein genügt, um die Infusorien zum Ausschlüpfen zu bringen ohne Rücksicht auf den Nährboden. Wie mein Versuch 10 zeigt, ist Leinkuchen für das Leben der parasitischen Protozoen ungeeignet, weil er keine Nahrung für dieselben bildet. Außerdem zeigen meine Versuche mit Rinderdung, sowohl frischem wie von der Sonne getrocknetem, daß der Dung direkt schädlich auf die Protozoen einwirkt, wenn er dem Versuchstier in reichlicher Menge eingegeben wird. Mir ist es nur ein einziges Mal gelungen, mit Rinderdung

bei Fütterung mit desinfiziertem Heu ein *Diplodinium* zu züchten. Bei Fütterung von azoischem Panseninhalt erhielt ich das eine Mal *Entodin. min.*, das andere Mal meine parasitischen Flagellaten. Es ist aber zweifelhaft, ob die Kapseln im Panseninhalt des Rindes gebildet worden sind, oder ob sie durch das Heu in den Pansen desselben hineingekommen und noch nicht aufgelöst worden sind, so daß erst bei nochmaliger Fütterung die Protozoen ausschlüpften. Eberlein (12) kommt durch seine Versuche zu dem Schluß, daß die Infektion zweifellos durch Heu und Wasser erfolgt.

Günther sagt, daß es durch seine Versuche durchaus noch nicht erwiesen ist, daß die Infektion ausschließlich durch das Heu geschieht, sondern es ist auch noch denkbar, daß Heufütterung einen Zustand im Pansen schafft, bei dem von einem anderen Ort in irgendwelcher Form eindringende Infusorien sich entwickeln können, z. B. wäre es denkbar, daß beim Zerkleinern der Futtermassen in der Maulhöhle Schleimpartikelchen, die etwaige Infusorienformen enthielten, aus dem Respirationstraktus oder den großen Kopfhöhlen zwischen die Futtermassen gerieten und so eine Infektion verursachten.

Aus meinen Versuchen geht hervor:

1. Daß eine Infektion von Tier auf Tier nicht stattfindet.

2. Daß die Infektion durch die Luft oder vom eignen Munde des Tieres nicht erfolgt.

3. Daß das Wasser nicht infektiös ist.

4. Daß das Heu und das Grünfutter die alleinige und gewöhnliche Art der Infektion der Wiederkäuer mit den parasitischen Protozoen darstellt.

Das Resumé der Versuchsreihe III.

Von jedem Forscher, der über die Infektionsquelle gearbeitet hat, sind wohl die Kapseln gesucht worden, zuletzt von Günther, jedoch stets ohne Erfolg. Versuche mit totem Material wurden angestellt. Eberlein hat auf eine Heuinfusion eine Reihe von Tagen Bruttemperatur einwirken lassen. Günther geht in seinen Versuchen wieder einen Schritt zurück, indem er die Lebensweise der parasitischen Infusorien gar nicht berücksichtigt und aus einem Heuinfus bei gewöhnlicher Temperatur parasitische Infusorien züchten will. Eberlein hat ein Infus aus Heu und Wasser 14 Tage in den Brutofen gestellt. Er fand nach dieser

Zeit Flagellaten. Diesen Versuch habe ich auch wiederholt und ebenfalls Flagellaten gefunden und zwar *Cercomonas termo* STEIN (13), *Oikomonas termo* EHRENBERG (20) und *Bodo saltans* EHRENBERG. Es sind jedenfalls keine Parasiten sondern die gewöhnlichen Infusionsbewohner; alle haben mindestens 1 conc. Vacuole. Es brauchen aber nicht immer diese Flagellaten aufzutreten, es können ja gelegentlich auch andere sein, welche in den so hergestellten Infusen gefunden werden, das hängt lediglich von den Kapseln ab, welche sich zufällig in dem betreffenden Heu befinden.

Will man die parasitischen Protozoen künstlich züchten, so muß man Bedingungen herstellen, wie sie bei den Wiederkäuern gegeben sind. Ich habe mich bemüht, die Veränderungen, welche mit dem Heu, das von Wiederkäuern verzehrt wird, vor sich gehen, in meinen Versuchen nachzuahmen. Mit Hilfe der Kaffeemühle sollte das Heu zermahlen werden, damit die Speicheldiastase, das Ptyalin (19) durch die gesprengten Cellulosewände der Zellen in das Innere derselben eindringen kann. Menschen-, Pferde- und Ziegenspeichel wurde mit Heu versetzt, daraus Infuse hergestellt. Da die Kaffeemühle eine mehr schneidende Wirkung hatte, wurde schließlich das Heu mit Speichel vermischt und zwischen 2 rauhen Steinen, die angewärmt waren, zerquetscht, weil ich annahm, daß die Entocysten auch zerquetscht resp. gesprengt werden müßten, damit der protoplasmatische Innenkörper heraus könne. Aus Heu und Pansenflüssigkeit wurden Infuse hergestellt, das Rind selbst hat Heu kauen müssen, das ihm aus dem Mund wieder herausgenommen wurde, um die weitere Zersetzung im Brutofen vor sich gehen zu lassen. Alles jedoch ohne Erfolg. Daß die parasitischen Protozoen aus ihren Kapseln nicht ausgeschlüpft sind, hat nicht etwa seinen Grund darin, daß die Kapseln nicht wirkliche parasitäre Kapseln wären, sondern einfach darin, daß es mir nicht gelang, dieselben Verhältnisse resp. Bedingungen, wie sie im Wiederkäuerpansen vorliegen, hervorzurufen. Schließlich habe ich die GÜNTHER'schen Versuche mit Rectalinhalt vom Schaf bei Zimmertemperatur wiederholt und bekam auch *Colpidium colpoda*. GÜNTHER stellt dies nun als eine ganz merkwürdige und auffällige Tatsache hin, er glaubt, daß die Colpoden in irgendwelchen Beziehungen zu den parasitischen Infusorien stehen müßten. Dieses anscheinend verblüffende Resultat des Versuchs klärt sich auf die einfachste Weise, welche man sich nur denken kann, auf. Wenn man nur ein klein wenig die 4 Mägen, den Dünn-, Dick- und Mastdarm irgendeines Wiederkäuers untersucht, so findet man die Colpodenkapseln zuweilen in so großer Zahl, daß sie, ich will den

Mund einmal voll nehmen, die Infusorien verdunkeln. Da die Colpoden während des Durchgangs durch den Magendarmtraktus keine für ihre Existenz günstigen Bedingungen finden, so bleiben sie eingekapselt und werden so in den Mastdarm und von dort wieder nach außen gebracht. Macht man jetzt ein Infus bei Zimmertemperatur, so können die Colpoden ausschlüpfen. Setzt man das Infus aber in den Brutofen bei 37° C, so schlüpfen sie nicht aus. Wann und wo die Flagellaten und Infusorien sich einkapseln, konnte ich durch meine Versuche nicht herausbringen. Günther stellt (1889) eine Theorie auf, deren Sinn in dem Werke von Bütschli (16) über die Infusorien (1887—89) Seite 1647 verzeichnet ist. Zeller (40) hat schon im Jahr 1877 für *Opalina ranarum* festgelegt, daß nur bei einer bestimmten Jahreszeit die Einkapslung derselben erfolgt.

Günther sagt: Sollte aber dennoch eine Dauerform dieser Infusorien existieren und das Heu der Träger derselben sein, so bleibt nur noch die Möglichkeit, daß die in den ersten beiden Magenabteilungen vorkommenden Infusorien sich zu einer ganz bestimmten Zeit, die sich vielleicht nur auf einige Tage bemißt, encystieren.

Hypothesen aufzustellen hat keinen Zweck, da hier wieder nur das Experiment entscheiden kann.

Bern, im Mai 1905.

Literatur.

1) STUDER, TH., Prof. Dr.: Vorlesung über Zoologie W./S. 1904/5.
2) FRÖHNER, EUGEN, Berlin: Compendium der speziellen Chirurgie für Tierärzte. 2. verbesserte Aufl. Stuttgart 1900.
3) DAVAINE, C.: Artikel Monadiens au Dictionnaire encyclopédique des Sciences Médicales, deuxième série Bd. IX 1875.
4) CERTES, A.: Note sur les Microorganismes de la Panse des Ruminants. Journ. de Micrographie Bd. 13 S. 278—279 1889.
5) —: Bull. Soc. Z. France 13 Vol. 1888 p. 230.
6) —: Sur le procède de M. Joseph Eismond pour l'étude des infusoires vivants. Bull. Soc. Z. France Tome XVI.
7) JENSEN: Biol. Centralbl. Bd. 12 1892 p. 558.
8) DOFLEIN, F.: Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. München 1901.
9) FISCHER, A., Basel: Untersuchungen über Bacterien. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 27 S. 81 1895.
10) —: Über die Geißeln einiger Flagellaten. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 26 1894.
11) LÖFFLER, F.: Eine neue Methode zum Färben der Microorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geißeln. Bakteriol. Centralbl. Bd. 4 1889.
12) EBERLEIN, RICHARD, Berlin: Über die im Wiederkäuermagen vorkommenden ciliaten Infusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 59 1895.
13) STEIN, FRIEDR. v.: Der Organismus der Infusionstiere. III. Abt. 1. Hälfte. Leipzig 1878.
14) —: Charakteristik neuer Infusoriengattungen. Lotos. Zeitschr. f. Naturwiss. Prag 1859.
15) BÜTSCHLI, O., Heidelberg: I. Bd. Protozoa. II. Abt. Mastigophora in H. G. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs 1883—87.
16) —: I. Bd. Protozoa. III. Abt. Infusoria in H. G. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs 1887—89.
17) KLEBS, GEORG, Basel: Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 55 1893.
18) EYFERTH, B.: Einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreichs. 3. von WALTHER SCHÖNICHEN und ALFRED KALBERLAH, verbesserte Auflage. Braunschweig 1900.
19) MUNK, J.: Physiologie des Menschen und der Haussäugetiere. Berlin, 4. Aufl. 1897 S. 558—59.
20) EHRENBERG, CHR. FRIEDR.: Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. Leipzig 1838.
21) CLAPARÈDE u. LACHMANN: Études sur les Infusoires et Rhizopodes. Bd. V—VII. Genève 1858—61.
22) SCHUBERG: Die Protozen des Wiederkäuermagens. I. Zool. Jahrb. Bd. III 1888.
23) —: Einige Organisationsverhältnisse der Infusorien des Wiederkäuermagens. Sitz.-Ber. d. Würzburger physikal.-medizin. Ges. 1891.
24) FIORENTINI: Intorno ai protisti dello stomaco dei Bovini. Ricerche dell Dott. ANGELO FIORENTINI, medico-veterinario. Pavia 1889.
25) HOFFMANN: Lehrbuch der Zoochemie. Wien 1876, p. 372 u. Forts.
26) PINNER: Repetitor. der anorgan. Chemie. Berlin. 7. Aufl. 1887.
27) ARNOLD: Repetitor. der Chemie. Hamburg und Leipzig. 4. Aufl. 1887.



28) Wisselingh, C. van: Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwand der Fungi. Jahrb. f. wiss. Botanik Bd. 31 1898.

29) Gruby u. Delafond: Recherches sur les animalcules se développant dans l'estomac et dans les intestins pendant la digestion des animaux herbivores et carnivores. Recueil de Médicine vétérinaire 1843 p. 859.

30) Collin: Traité de Physiologie comparée des animaux. 2. Aufl. Paris 1871 p. 766.

31) Weiss: Spez. Physiologie der Haussäugetiere für Tierärzte und Landwirte. Stuttgart 1869. 2. Aufl. p. 131.

32) Zürn: Die Schmarotzer auf und in dem Körper unserer Haussäugetiere. Weimar. 2. Aufl. 1887 Bd. II p. 790.

33) List: Untersuchungen über die in und auf dem Körper des gesunden Schafes vorkommenden niederen Pilze. Inaug.-Dissert. Leipzig 1885.

34) Günther, Adolf: Über die im Magen unserer Hauswiederkäuer vorkommenden Wimperinfusorien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 65 1899.

35) Binz, C.: Über die Wirkung antiseptischer Stoffe auf Infusorien von Pflanzenjauche. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1867 p. 305—8.

36) Fabre-Domergue, P.: Sur les propriétés dialytiques de la membrane du kyste des infusoires. Compt. rend. Ac. sc. Paris T. 101 1885 p. 1507—9.

37) Rhumbler, L.: Die verschiedenen Cystenbildungen und die Entwicklungsgeschichte der holotrichen Infusoriengattung Colpoda. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 46 1888 p. 549—601.

38) Schmaltz, Prof. Dr., Berlin: Vorlesung über vergleichende Anatomie der Haustiere W./S. 1898/99.

39) Fischer, Ed., Prof. Dr., Bern: Vorlesung über allgemeine Botanik und Cryptogamen W./S. 1904/5.

40) Zeller, E.: Untersuchungen über die Fortpflanzung und Entwicklung der in unseren Batrachiern schmarotzenden Opalinen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 29 1877 S. 352—380.

41) Kent, W. Saville: A Manual of the Infusoria. Vol. I u. III. London 1880—82.

42) Ehrlich: Allgem. med. Zeitschr. 1894 p. 220 und Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 11 1894 p. 250.

Tafelerklärung.

Tafel I u. II.

Zeichenerklärung.

n = Nucleus.	*NV* = Nahrungsvacuole.
sp = spiralig aufgerollte Geißel.	*lv* = leistenartiger Vorsprung.
m = Mundfortsatz.	*ap* = Apicalöffnung.
E = Einpflanzungsstelle der Geißel.	*rp* = Rautenplatte.
sp = Sporen.	*gs* = Geißelspalte.
fl = Flimmern.	*su* = Schlundunterstützung.
ek = Ectocyste.	*r* = Rostrum.
en = Entocyste.	*ent* = Entoplasma.
NK = Nahrungskörper.	*ect* = Ectoplasma.
cv = contractile Vacuole.	*i* = Innenkörper.
b = Basalstück der Geißel.	*c* = Cyste.
K = Kolonie.	*o* = kreisförmige Scheitelöffnung.

Fig. 1—7 frei nach der Natur gezeichnet.

Fig. 1. *Sphaeromonas maxima.* 13 μ.

Fig. 2. *Sphaeromonas communis.* Geißel in der Bewegung, eine Parabel darstellend. 7 μ.

Fig. 3. *Sphaeromonas minima.* 4 μ.

Fig. 4. *Sphaeromonas communis* in Längsteilung begriffen. Das vordere Flagellat mit der aufgerollten Geißel.

Fig. 5. *Sphaeromonas communis* mit Mundfortsatz.

Fig. 6. *Sphaeromonas communis*, die halbkreisförmige Bewegung des Mundfortsatzes von links nach rechts darstellend.

Fig. 7. Flagellatenentocyste mit ihren Sporen. 7 μ. Sporen 1 μ.

Fig. 7a. Junges Individuum. 1—2 μ.

Fig. 8 u. 9 nach der Fixation und Färbung gezeichnet.

Fig. 8 zeigt die Einpflanzungsstelle der Geißel.

Fig. 9. Geißel.

Fig. 10—36 frei nach der Natur gezeichnet.

Fig. 10, 11 u. 12 sind 3 verschiedene Formen von *Oikomonas communis.*

Fig. 10. 11 μ lang.

Fig. 11 u. 12. Länge 8 μ, größte Breite 4 μ.

Fig. 13. *Oikomonas minima*, Länge 4 μ, Breite 3 μ.

Fig. 14. Flagellatenectocyste, 7 μ.

Fig. 15. Flagellatenentocyste, 7 μ, Sporen 1 μ.

Fig. 16, 17 u. 18 sind 3 verschiedene Formen von *Piromonas maxima*, Länge 18 μ, die Breite oben 4 μ, unten 11 μ.

Fig. 17 u. 18 zeigen die Einpflanzungsstelle der Geißel.

Fig. 19. *Piromonas communis*, 8 μ lang.

Fig. 20. *Piromonas minima*, 4 μ lang.

Fig. 21, 22 u. 23 sind 3 verschiedene Formen von *Cercomonas rhizoidea maxima*, Länge 14—19 μ, Breite ca. 7 μ.

Fig. 24—27. *Cercomonas rhizoidea communis*, Länge 7—10 μ, Breite 3—4 μ.
Fig. 24. Fressendes Flagellat.
Fig. 26. Flagellat mit Mundfortsatz.
Fig. 27. Vorderkörper des Flagellats amöboid veränderlich.
Fig. 28. *Cercomonas rhizoidea minima*, Länge 5 μ, Breite 2 μ.
Fig. 29—32. Saprophyten.
Fig. 33. Abgeworfene Geißel.
Fig. 34—37. 4 verschiedene Formen der *Amoeba bovis*, ca. 20 μ groß.
Fig. 37 u. 38 nach der Präparation gezeichnet.
Fig. 37. *Amoeba bovis*.
Fig. 38. *Mastigamoeba bovis*, 25 μ.
Fig. 39—58 frei nach der Natur gezeichnet.
Fig. 39. *Amphidinium lacustre*, Länge 23 μ, Breite 18 μ.
Fig. 40. *Peridinium tabulatum*, Länge 48 μ, Breite 43 μ.
Fig. 41—44. Tote resp. schon veränderte Infusorien.
Fig. 41 u. 42. *Entodinium rostratum*.
Fig. 43. *Diplodinium rostratum*.
Fig. 44. Es ist nur noch die Zugehörigkeit zu den Infusorien zu erkennen.
Fig. 45—48 sind Infusorienkapseln aus dem Ziegenpansen, Entocysten.
Fig. 49—58. Kapseln aus dem Heu.
Fig. 49. Eine größere Anzahl Entocysten auf einem Grasteilchen.
Fig. 55. Die Ectocyste der Entocysten in Fig. 49.
Fig. 50—52. Infusorienentocysten.
Fig. 53 u. 54. Entocysten.
Fig. 53. Entodiniumentocyste.
Fig. 54. Diplodiniumentocyste.
Fig. 56 u. 57. Ectocysten der parasitischen Infusorien auf Heuteilchen.
Fig. 58. Kapsel von *Colpidium colpoda*.

(Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Die Flagellatenordnung „*Binucleata*“.

Phylogenetische Entwicklung und systematische Einteilung der Blutprotozoen.

Von

Max Hartmann und **Victor Jollos.**

(Hierzu 12 Textfiguren.)

Durch die Untersuchungen der letzten Jahre haben unsere Anschauungen von der systematischen Stellung und den gegenseitigen Beziehungen der Blutprotozoen wesentliche Klärung erfahren. Während früher nur ein kleiner Teil von ihnen zu den Flagellaten gerechnet werden konnte und andere mit Coccidien und Gregarinen als „Telosporidien“ vereinigt wurden, zeigen die cytologischen und entwicklungsgeschichtlichen Forschungen der jüngsten Zeit immer deutlicher, daß fast alle im Blute bisher gefundenen Protozoen nicht nur in biologischer, sondern auch in systematischer Hinsicht eine einheitliche Gruppe bilden, die zu den Flagellaten gestellt werden muß. Die Verwandtschaft zwischen den einzelnen Formen ist, wie wir sehen werden, sogar eine so nahe, daß Hartmann (1907) sie — mit Ausnahme der noch nicht genauer in das System einfügbaren Spirochäten — zu einer einzigen Ordnung zusammenfassen konnte, der er den Namen „Binucleata“ gab.

Wenn wir nun hier diese Verhältnisse wiederum einer zusammenfassenden Besprechung unterziehen, so geschieht dies einmal, weil es uns heute schon möglich erscheint, das System der Blutprotozoen



im einzelnen weiter auszuführen und zu begründen, sodann aber, weil gerade in jüngster Zeit von verschiedenen Seiten Abhandlungen veröffentlicht sind, die viele Ergebnisse und Probleme auf diesem Gebiete nach unserer Ansicht in schiefem Lichte darstellen.

Beginnen wollen wir unsere Übersicht mit einem der wichtigsten und charakteristischsten Merkmale der Blutparasiten, der Ausbildung des Kernapparates. Wie schon der Name „Binucleata“ sagt, sind alle zu dieser Ordnung gehörigen Formen zweikernig.

Betrachten wir ein Trypanosoma, z. B. das im Blute der Ratte häufig vorkommende *T. lewisi*, so sehen wir außer dem Kern im Protoplasma noch ein zweites, Kernfarbstoffe stark aufnehmendes Körperchen, das in der Regel mit der Saumgeißel (undulierenden Membran) des Parasiten in Verbindung steht und meist als „Blepharoplast“ bezeichnet wird. Andere Namen sind: Micronucleus, Kinetonucleus, Centrosom (bzw. extra-nuclear centrosome von Moore u. Breinl).

Der eigentliche Kern (Hauptkern) stimmt, wie neuere mit schonenden Methoden gewonnene cytologische Befunde gezeigt haben, in seinem Bau mit den bläschenförmigen Kernen anderer Flagellaten, speziell der Protomonadinen überein (Moore u. Breinl, Rosenbusch, Chagas). Er besitzt ein ziemlich stark ausgebildetes Caryosom, in dem ein Centriol eingeschlossen ist; die Kernsaftzone enthält dagegen nur wenig chromatische Substanz. Die Teilung ist, wie Rosenbusch nachgewiesen und Chagas (1909c) jetzt für *Schizotrypanum* bestätigt hat, eine typische Mitose, die sich ganz am Caryosom abspielt (Fig. 1).

Bei den sog. „Hämosporidien“ findet sich nun, soweit sie cytologisch einwandfrei untersucht sind, ganz der gleiche Bau des Kernes, so bei *Haemoproteus noctuae* (Berliner) (Fig. 4), *Proteosoma* (unveröffentlichte Untersuchungen aus dem Institut für Infektionskrankheiten) und *Babesia canis* (Breinl u. Hindle) (Fig. 5).

Hinsichtlich des Wesens des zweiten chromatischen Körperchens (Blepharoplasten) gingen, wie schon die verschiedenen ihm zugelegten Benennungen erkennen lassen, die Anschauungen sehr auseinander. Eine endgültige Klärung haben erst die Untersuchungen Rosenbusch's gebracht, durch die die besonders von Schaudinn und Prowazek vertretene Auffassung sicher bewiesen ist:

Bei Anwendung schonender Fixierungs- und Färbemethoden ergibt sich nämlich, daß der Blepharoplast vollkommene Kernstruktur besitzt; denn die stark färbbare Masse, die bisher allein als Blepharoplast bezeichnet wurde, ist nur der Innenkörper (Caryosom) eines größeren Gebildes, eines Kernes, dessen Außenzone (Kernsaftzone) meist sehr

schmal und fast chromatinlos erscheint. Manchmal ist sogar eine deutliche Kernmembran, sehr häufig im Binnenkörper ein Centriol zu beobachten (Fig. 1 f). (Bei Trockenfixierung werden fast alle diese feinen Strukturen unkenntlich; die Außenzone erscheint dann häufig als Vacuole neben dem Innenkörper und ist auch als solche von vielen Forschern beschrieben worden.)

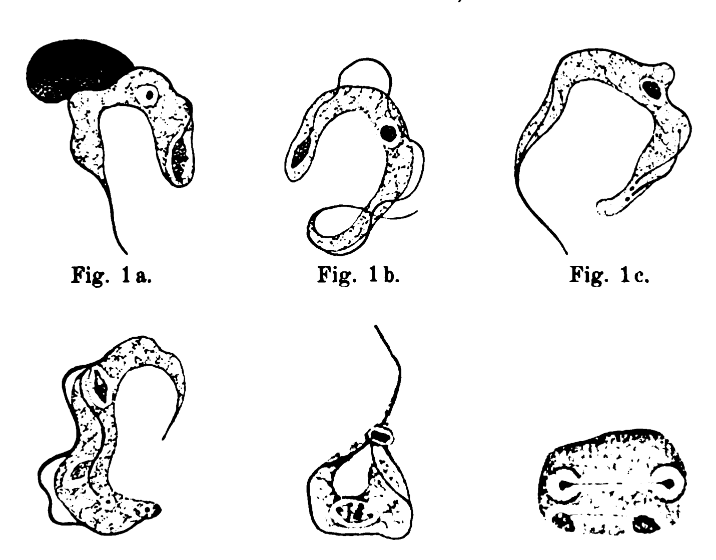


Fig. 1 a—d. Blepharoplastteilung und Geißelbildung bei *Trypanosoma equinum* und *equiperdum* (nach Rosenbusch).
Fig. 1 e u. f. Kernteilungen bei *Schizotrypanum cruzi* (nach Chagas).

Mit diesem cytologischen Ergebnis stimmt die von Schaudinn und Prowazek festgestellte Entstehung des Blepharoplasten durch heteropole Mitose des Kernes (unter hauptsächlicher Beteiligung des Caryosoms) aufs beste überein.

Auch sein sonstiges Verhalten spricht durchaus dafür, daß wir ihn als einen richtigen zweiten Kern ansehen müssen: So geht der Teilung des Trypanosoma eine Teilung von Kern wie Blepharoplast voraus, und bei der Copulation verschmelzen auch die Blepharoplasten der beiden Gameten, nachdem sie ganz wie die Kerne ihre chromatische Substanz reduziert haben (Schaudinn, 1904). Jeder Zweifel an der Kernnatur des Blepharoplasten wird aber durch den von Rosenbusch einwandfrei erbrachten Nachweis beseitigt, daß er sich regelrecht mitotisch teilt, indem Polkappen, Chromosomenplatte und Spindel gebildet werden (Fig. 1 a u. b).

Der Besitz zweier Kerne, eines „Hauptkernes", wie wir uns jetzt genauer ausdrücken müssen, und eines Blepharoplasten oder Geißelkernes, kommt nun nicht nur den Trypanosomen zu, sondern ist in ähnlicher Weise für fast alle Blutprotozoen charakteristisch.

An den Fortpflanzungs- und Befruchtungsvorgängen nehmen, wie erwähnt, beide Kerne teil, im vegetativen Leben dagegen scheint der Hauptkern vor allem eine Rolle beim Stoffwechsel zu spielen (Trophonucleus Woodcock, Minchin), während der Blepharoplast in engsten Beziehungen zur Bildung und wohl auch Funktion des lokomotorischen Apparates steht, daher treffend als „Geißelkern" oder mit Woodcock als „Kinetonucleus" bezeichnet werden kann.[1]) Zu verwerfen ist dagegen der Name „Micronucleus", der zur Verwechslung mit dem ganz anders gearteten Micronucleus der Infusorien führt, und „Centrosom" (bzw. extra-nuclear centrosome), der der Kernnatur des Blepharoplasten nicht gerecht wird, sondern nur das in ihm befindliche Teilungsorgan hervorhebt.

Die Geißeln der Binucleaten werden, wie Schaudinn und Prowazek zuerst gezeigt haben und Hartmann, Rosenbusch und Chagas vollauf bestätigen, durch heteropole Mitose des Blepharoplasten gebildet. Gewöhnlich wird von ihm ein kleinerer Körper (sekundäres Centriol) abgeschnürt, der sich dann noch einmal teilt, und zwar in der Richtung der Längsachse der Zelle. Die eine Teilungshälfte bleibt als sog. Basalkorn in der Nähe des Blepharoplasten, mit dem sie häufig durch eine feine Fibrille verbunden ist; die andere rückt unter dem Periplast immer weiter nach vorn. Zwischen beiden spannt sich eine Verbindungsbrücke (Centrodesmose), die eben zur Geißelfibrille wird. Eine nicht selten am freien Ende der Geißel nachweisbare knopfartige Verdickung — die abgerückte Teilungshälfte — zeigt auch beim ausgebildeten Flagellaten noch deutlich diese Entstehung (vgl. Fig. 1 c). In ähnlicher Weise sind auch weitere dem Periplast der Trypanosomen eingelagerte Fibrillen genetisch vom Blepharoplasten abzuleiten.

Liegt nun der Blepharoplast im vorderen Ende der Zelle, so geht die Geißel frei nach außen, ist er aber nach hinten verlagert, so wird dementsprechend auch die Geißelfibrille zum Teil durch den

[1]) Da mit dem bisher in der Regel gebrauchten Namen „Blepharoplast" meist nur ein Teil (Caryosom) dieses Kernes bezeichnet wird und dieser Name ferner auch für andere Gebilde (Basalkörper, Centriole) üblich ist, die zwar dieselbe Genese aufweisen, aber funktionell nicht mehr gleichwertig resp. als Kerne rückgebildet sind, so empfiehlt es sich, daneben auch die Bezeichnung von Woodcock zu verwenden, freilich nur, um nicht noch einen neuen Namen zu bringen. Vorgezogen hätten wir die Ausdrücke „Flagellonucleus" oder „Blepharocaryon", da sie bestimmter charakterisieren und sprachlich richtiger gebildet sind.



Körper des Flagellaten zurückgezogen, bzw. muß ihn durchwachsen. Bei ihrer Tätigkeit wird der Periplast, unter dem sie liegt, und eine feine Plasmaschicht seitlich ausgezogen, und es entsteht auf solche Weise eine „undulierende Membran“ (Saumgeißel).[1] Diese stellt also eine Periplastfalte dar, in der Spuren von Entoplasma nachweisbar sind, und an deren Rande im Innern eine Geißelfibrille (Randfaden) liegt. Wie schon aus der Genese hervorgeht, ist daher bei der Saumgeißel (undulierenden Membran) und der freien Geißel das einzige dauernde und formbestimmende Element dasselbe, nämlich eine (resp. mehrere) aus einer Teilungsspindel entstandene Fibrille.

Über die Art der Geißel der Binucleaten entscheidet demnach in erster Linie die Stellung des Blepharoplasten, und da diese bei derselben Species auf verschiedenen Stadien wechseln kann, so ist der Besitz einer undulierenden Membran oder freien Geißel kein konstantes Artmerkmal und darf also nicht zur Bestimmung der verwandtschaftlichen Beziehungen herangezogen werden. Haben doch neuere Untersuchungen ergeben, daß der Geißelkern bei den Trypanosomen — vor allem bei Kulturformen — vor den Hauptkern in das vordere Ende der Zelle rücken kann, wobei dann aus der Saumgeißel eine einfache freie Geißel wird (Fig. 2).



Fig. 2.
Kulturform von *Trypanosoma lewisi* (nach Rosenbusch).

Zwischen den frei im Blute lebenden Trypanosomen, die wir bisher unserer Schilderung hauptsächlich zugrunde gelegt haben, und deren Zugehörigkeit zu den Flagellaten natürlich ohne weiteres klar ist, und den epi- und endoglobulären „Hämosporidien“ scheint auf den ersten Blick eine unüberbrückbare Kluft zu bestehen, und doch gelang es durch Auffindung von Zwischenformen eine fast lückenlose Übergangsreihe herzustellen. Erst in jüngster Zeit haben Mesnil u. Brimont einen Blutparasiten beschrieben, der den ersten Schritt auf diesem Wege zeigt: einen Flagellaten — *Endotrypanum schaudinni* —, der ganz

[1]) Ein anderer Weg zu ihrer Entstehung wäre dadurch gegeben, daß eine ursprünglich freie Geißel sich von außen um die Zelle legt, mit ihr teilweise verschmilzt und dann bei der Funktion gleichfalls eine Plasmalamelle mit sich zieht; so ist z. B. die Geißel des Darmflagellaten *Trichomonas* abzuleiten, während unter den Binucleaten dieser Modus nur bei den zweigeißeligen Trypanoplasmen verwirklicht zu sein scheint.

wie ein Trypanosoma gebaut ist, aber im Innern von Erythrocyten lebt. Sehr nahe verwandt mit dieser Form ist wahrscheinlich das von Chagas (1909) entdeckte und eingehend studierte *Schizotrypanum cruzi.* Dieses neue südamerikanische Blutprotozoon des Menschen dringt in geißellosem Zustande in einen Erythrocyten ein und bildet sich in ihm zu einem typischen Trypanosoma aus, um die Wirtszelle alsdann wieder zu verlassen (s. Fig. 3). Durch die interessante Untersuchung von Chagas ist also hier bei einer neuen Form die Zugehörigkeit eines geißellosen endoglobulären Stadiums zum Entwicklungskreise eines Flagellaten einwandfrei dargetan.

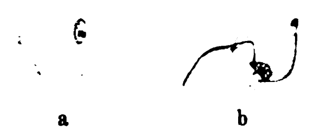


Fig. 3. *Schizotrypanum cruzi* (nach Chagas).
a) Junger Merozoit in einem roten Blutkörperchen, b) Ausschlüpfen der aus dem Merozoiten entstandenen Trypanosomenform.

Ein derartiger Zusammenhang ist bekanntlich zuerst von Schaudinn (1904) in seiner berühmten Arbeit über *Haemoproteus (Halteridium) noctuae* und *Leucocytozoon ziemanni* angegeben worden. Da aber die Ergebnisse Schaudinn's vielfach angezweifelt worden sind, so wollen wir hier nur anführen, daß auch bei den genannten Blutprotozoen des Steinkauzes aus geißellosen endoglobulären Formen auf einem späteren Stadium — im Darm der die Übertragung vermittelnden Mückenart — Flagellaten entstehen. Dieser Teil der Angaben Schaudinn's kann, wie schon Lühe (1906) hervorhebt, sicher nicht auf einer Verwechslung mit anderen Parasiten beruhen, da Schaudinn die Entwicklung der Geißel beim nicht zu verkennenden Ookineten von *Haemoproteus* im Leben beobachtet hat.

Gegenüber *Endotrypanum* und *Schizotrypanum* zeigt sich bei den Halteridien eine weitere Rückbildung darin, daß trypanosomenartige Stadien im Blute für gewöhnlich wenigstens nicht vorzukommen scheinen. Wohl aber lassen auch die endoglobulären Formen oft mit aller Deutlichkeit einen zweiten Kern (Blepharoplast) erkennen, wie neuerdings wieder Berliner (1909) und Woodcock (1909) festgestellt haben. Daß es sich hierbei tatsächlich um einen Kinetonucleus und nicht, wie manche Forscher (z. B. Wenyon) meinen, nur um ein beliebiges färbbares Korn handelt, zeigen die Beobachtungen von Berliner, wonach dieser zweite Kern auch hier gelegentlich durch

eine Fibrille mit dem Caryosom des Hauptkernes in Verbindung steht (Fig. 4).

An *Haemoproteus* wollen wir wenigstens einen Teil der noch relativ wenig erforschten Hämogregarinen, vor allem die Angehörigen der Gattung *Lankesterella*, anschließen. Auch sie sind endoglobuläre Parasiten, bei denen zum mindesten auf gewissen Stadien im Blute die Doppelkernigkeit festgestellt worden ist (Robertson, Prowazek, Franca, Neumann u. a.). Und neuerdings konnte Neumann (1909) bei jungen beweglichen Formen der *Haemogregarina polypartita* aus Fischen sogar eine kleine vom Blepharoplast (Kinetonucleus) ausgehende Geißel deutlich beobachten. Die Entwicklung im Überträger ist noch nicht genügend geklärt.



Fig. 4. *Haemoproteus noctuae* (nach Berliner).

Manche Übereinstimmung mit den Halteridien zeigt sodann die Gattung *Leishmania*, deren Vertreter als Erreger der Kalaazárkrankheit und der Orientbeule bekannt sind. Entsprechend ihrer intracellulären Lebensweise gelangt bei ihnen im Körper des Menschen keine Geißel zur Ausbildung. Ohne Mühe lassen sich aber die beiden Kerne feststellen. In Kulturen entwickeln sich dagegen die Parasiten bald zu freien Flagellaten, indem vom Kinetonucleus aus eine lange Geißel entsteht. Patton gelang es endlich, auch im Darme einer Wanzenart (*Cimex rotundatus*), die in der Regel den Überträger der Kalaazár zu bilden scheint, eine ganz entsprechende Entwicklung nachzuweisen.

In die Nähe der Leishmanien gehört offenbar auch die von Splendore und Nilolle gefundene Gattung *Toxoplasma*. Wie noch unveröffentlichte weitere Untersuchungen von Splendore zeigen, findet sich auch hier bei einem großen Teil der etwa birnförmigen Parasiten in der Nähe des Hauptkernes ein Blepharoplast.

Mit den Stadien von Leishmania im menschlichen Körper zeigen die Babesien (Piroplasmen) so große Ähnlichkeit, daß die Kalaazár von manchen Forschern als menschliche Piroplasmose bezeichnet wird.[1])

[1]) Über die Beziehungen von *Leishmania* zu Insektendarmparasiten s. S. 97.

Auch die Angehörigen der Gattung *Babesia* haben in der Blutbahn als epi- und endoglobuläre Parasiten für gewöhnlich keine Geißel, wohl aber läßt sich auch bei ihnen in der Regel die Doppelkernigkeit erkennen. Die Entwicklung in den verschiedenen Zecken, die bei den einzelnen Arten den Überträger bilden, ist noch nicht genügend erforscht. Flagellatenstadien sind dort bisher nicht gefunden worden, dagegen „keulenartige“ Formen, die vielleicht als „Ookineten“ angesprochen werden dürfen. Im Blute infizierter Tiere jedoch haben bereits viele Untersucher (KINOSHITA u. a.) die gelegentliche Entstehung einer vom Blepharoplasten ausgehenden Geißel festgestellt, und zwar bei den Stadien, die als Geschlechtsformen angesehen worden sind. Schöne und einwandfreie Bilder hiervon haben neuerdings BREINL u. HINDLE gegeben (s. Fig. 5).

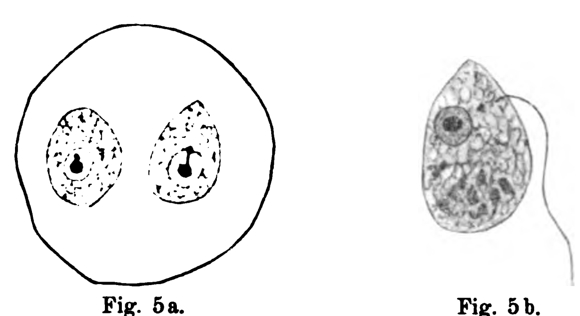


Fig. 5a. Fig. 5b.

Entstehung des Blepharoplasten und Flagellatenstadium von *Babesia canis* (nach BREINL u. HINDLE).

Bei *Proteosoma*, mit dem wir zu den Malariaparasiten übergehen, ist der lokomotorische Apparat noch fast ebenso entwickelt wie bei *Babesia*. Eine Geißel findet sich in der Regel nur bei den Microgameten, gelegentlich ist sie aber auch bei Merozoiten (Fig. 6a) zu beobachten (HARTMANN 1907). Und fast alle Formen zeigen deutlich wieder die beiden Kerne, wie dies von HARTMANN für die Schizogonie- und geschlechtlichen Stadien, von NEUMANN (1908) und den Brüdern SERGENT dann auch für die Sporozoiten festgestellt worden ist (s. Fig. 6). Von Interesse ist es jedoch, daß bei *Proteosoma* mitunter das Hineinrücken des Blepharoplasten in den Hauptkern verfolgt werden konnte (HARTMANN). (Bei anderen Binucleaten dagegen kann der Blepharoplast aus der Zelle eliminiert werden, so bei einem Teil der Formen von *Schizotrypanum cruzi* nach CHAGAS.) Dieses Verhalten erklärt uns das Fehlen des Geißelkernes, das bei Piroplasmen und Vogelmalaria nicht allzu selten bemerkt worden ist und mit der weiteren

phylogenetischen Entwicklung der Blutprotozoen immer mehr zur Regel wird.

Die verschiedenen Plasmodien der Affen lassen noch auf allen Stadien beide Kerne ziemlich oft erkennen. Bei ihnen ist gleich-

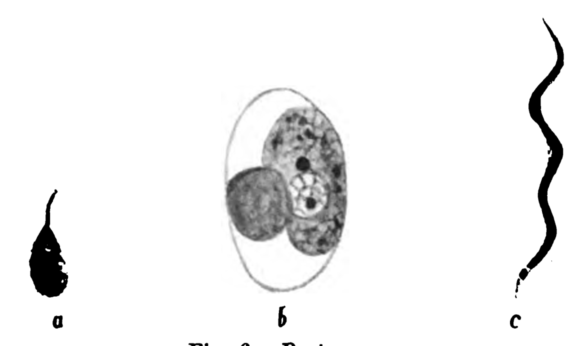


Fig. 6. *Proteosoma.*
a) Merozoit, b) Macrogametocyt, c) Microgamet (nach HARTMANN).

falls die Entstehung des Kinetonucleus durch heteropole Teilung des Hauptkernes (Fig. 7) und sein Wiederhineinrücken deutlich beobachtet worden (GONDER u. v. BERENBERG-GOSSLER). Die Microgameten scheinen wie bei *Proteosoma* eine Art Randgeißel zu besitzen.



Fig. 7.
Bildung des Blepharoplasten bei *Plasmodium Kochi* (nach v. BERBBERG-GOSSLER).

Die letzte Stufe der Binucleaten stellen endlich die an das endoglobuläre Leben am meisten angepaßten menschlichen Malariaparasiten dar. Eine Doppelkernigkeit gehört bei ihnen schon zu den Seltenheiten. Relativ am häufigsten kommt sie wohl bei den Gametocyten, mitunter auch noch bei den Merozoiten und Sporozoiten vor.

Schritt für Schritt haben wir so die Rückbildung des lokomotorischen Apparates bei den Blutprotozoen verfolgt. Wir haben gesehen, wie mit der Änderung der Lebensbedingungen, mit dem Überflüssigwerden dauernder Ortsbewegung zuerst die Geißel, dann auch der Geißelkern während eines immer größeren Teiles des Entwicklungsganges verschwindet. Nachzuholen wäre noch, daß selbst

bei den frei im Serum lebenden Arten, den Trypanosomen, geißellose und sogar blepharoplastlose Formen vorkommen. Immer aber, selbst am Ende der Reihe, finden sich doch noch Entwicklungsstadien, die wenigstens einen Teil des lokomotorischen Apparates zur Ausbildung bringen und somit deutlich ihre Abstammung dartun. Eine Grenze zwischen Trypanosomen und Hämosporidien kann also nicht errichtet werden; dieselben Arten zeigen ja auf verschiedenen Stadien bald Sporozoen- bald reinen Flagellatencharakter.

Und die nahe Zusammengehörigkeit der Blutprotozoen wird nicht allein durch Vergleich der Entwicklung des Geißelapparates klar, ganz entsprechend lassen sich vielmehr auch in mancher anderen Hinsicht phylogenetische Reihen aufstellen. Am besten erkennen wir wohl diese Verhältnisse, wenn wir einen Blick auf den ganzen Entwicklungskreis der hierher gehörigen Arten werfen.

Die Entwicklung eines Blutparasiten verteilt sich in der Regel auf zwei Wirtstiere, und dementsprechend kann man bei ihr auch zwei Hauptabschnitte unterscheiden: In der Blutbahn des einen Wirts gelangen nach einer längeren oder kürzeren Vermehrungsperiode (die bei den in zahlreiche Tochterindividuen zerfallenden Formen als „Schizogonie“ bezeichnet wird) Geschlechtsformen — die sog. Macro- und Microgametocyten — zur Ausbildung. Im Darmtrakt des zweiten reifen sie, es kommt zur Befruchtung, und die Copula bildet sich zu einem „gregarinenähnlichen“, sich gleitend und schlängelnd fortbewegenden Stadium, dem sog. Ookineten, aus, worauf nach einiger Zeit eine zweite Vermehrungsperiode (bei Formen mit multipler Teilung „Sporogonie“ genannt) einsetzt. Die hierbei entstehenden Individuen müssen dann wieder in die Blutbahn des ersten Wirtes gelangen. Diese Grundzüge gelten für die „Hämosporidien“ so gut wie für die Hämoflagellaten. Für die Trypanosomen ist ja eine Entwicklung im Überträger vielfach bestritten worden, so vor allem von MOORE u. BREINL (1907), NOVY und DOFLEIN. Eine treffende Kritik dieser Anschauungen, die sich nur auf negative Resultate gründen und zum Teil (DOFLEIN, 1909a) mit dem hier nichts erklärenden allgemeinen Begriff „Anpassung“ alle Formen der Trypanosomenentwicklung abtun wollen, hat soeben PROWAZEK (1909) gegeben und dabei schon auf die positiven Befunde und Experimente hingewiesen, die für eine Entwicklung der Trypanosomen im Überträger sprechen. Und in der Tat sprechen gerade die Untersuchungen der jüngsten Zeit unzweideutig zugunsten dieser letzteren, von SCHAUDINN, PROWAZEK, R. KOCH u. a. vertretenen Ansicht.

So konnte KLEINE zeigen, daß die Glossinen die Trypanosomen

für gewöhlich nicht mechanisch übertragen, sondern erst ungefähr 20 Tage nach Aufnahme trypanosomenhaltigen Blutes infektiös werden und es dann auch lange bleiben. Während der Zwischenzeit sind im Darm der Fliege die vor allem von R. Koch beschriebenen Entwicklungsformen zu beobachten. Und gleichzeitig konnte Baldrey einen analogen Nachweis für die Übertragung des *Trypanosoma lewisi* durch die Rattenlaus (*Haematopinus spinulosus*) erbringen. Parallel geführte morphologische Untersuchungen ergaben hier aber auch eine Bestätigung der früheren Angaben von Prowazek (1905): Während der etwa 8 Tage, die zwischen der Aufnahme der Trypanosomen und der Neuinfektionsfähigkeit der Laus vergehen, findet nämlich im Körper von *Haematopinus* Copulation, Ookinetenbildung und Vermehrung in einem „Crithidia-artigen“ Stadium statt. Zu demselben Schlusse führen ferner die wichtigen Untersuchungen von Chagas an *Schizotrypanum cruzi*, indem auch hier der Überträger, die Wanze *Conorhinus megistus* (Burm.), erst vom 10. Tage ab für das Wirbeltier wieder infektionsfähig wird und während dieser Zeit in ihrem Darme verschiedene Entwicklungsformen aufweist. Wenn also auch bei den pathogenen Trypanosomen sowie bei *Schizotrypanum* Befruchtung noch nicht beobachtet worden ist, so beweisen doch die Befunde von R. Koch, Kleine und Chagas schon jetzt mit Sicherheit, daß auch bei ihnen eine Entwicklung im Überträger stattfindet.

In den Grundzügen des Entwicklungslaufes stimmen demnach alle Binucleaten überein. Bei fast jeder Entwicklungsphase kann man nun aber auch entsprechend der Anpassung an intracelluläre Lebensbedingungen eine fortschreitende Ausbildung von den Trypanosomen zu den Plasmodien feststellen.

Beginnen wir mit der ersten Vermehrungsperiode (Schizogonie) in der Blutbahn: Bei den Trypanosomen findet in der Regel eine einfache Zweiteilung statt; nicht selten kommt es aber auch schon zu einer Art multiplen Vermehrung, indem einige Teilungen von Kern und Blepharoplast erfolgen, bevor sich die ganze Zelle teilt, so daß dann gleich eine Reihe neuer Trypanosomen auf einmal entsteht. Bei *Trypanosoma lewisi* können sich auf diese Weise sehr ausgedehnte Teilungsrosetten bilden; bei *Tr. rotatorium* kommt ferner nach França und Athias sowie nach unveröffentlichten Untersuchungen aus dem Institut Oswaldo Cruz sogar eine multiple Vermehrung (Schizogonie) im geißellosen Zustand vor. *Haemoproteus noctuae* zeigt uns vielleicht die nächste Stufe der Entwicklung. Nach Schaudinn sollen sich hier am Ende einer ungefähr sechs-

tägigen Wachstumsperiode mehrere Teilungen rasch hintereinander vollziehen, wodurch eine größere Anzahl kleiner Parasiten gebildet wird. Bei *Schizotrypanum cruzi* erfolgt die Vermehrung bereits immer im geißellosen Zustande, indem der Parasit die Geißel abwirft, sich abkugelt und in 8 kleine Tochterzellen zerfällt, die erst später — nach dem Eindringen in Erythrocyten — zu Flagellaten werden (s. Fig. 8). Da bei dieser Form, wie oben erwähnt, mit der Geißel auch der Geißelkern bei der Abkugelung eliminiert werden kann, so weist dieses unzweifelhafte Flagellat schon Stadien auf, wie wir sie sonst nur am Ende der Entwicklungsreihe bei Plasmodium finden (Fig. 8e—h). Bei *Haemoproteus columbae* ist die Schizogonie noch weiter ausgebildet, indem die Parasiten innerhalb einer Art Cyste unter

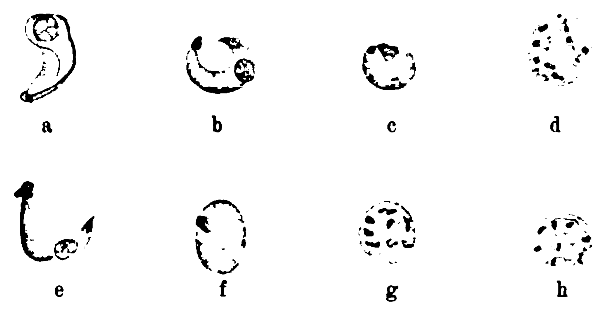


Fig. 8. Schizogonie von *Schizotrypanum cruzi* (nach Chagas). a—d mit Beibehaltung des Kinetonucleus, e—h nach Abstoßung desselben.

Kernvermehrung stark heranwachsen und dann in eine Menge kleiner Individuen zerfallen. Ein Restkörper bleibt nicht übrig, auch findet der ganze Vermehrungsprozeß nicht in einem roten Blutkörperchen, sondern in einem Leucocyten statt (Aragao). Ein ganz ähnlicher Vermehrungsmodus kommt neben der Längsteilung auch bei den Leishmanien und bei *Toxoplasma* vor.[1])

Noch größere Ähnlichkeit mit der Schizogonie der Malariaparasiten lassen die Piroplasmen erkennen; denn sie vermehren sich unencystiert innerhalb bzw. auf einem Erythrocyten, indem sich kleine Knospen von einem Restkörper abschnüren. Bei vorgeschrittener Infektion kommt es aber auch noch — ähnlich wie nach Schaudinn bei *Haemoproteus noctuae* — zu fortgesetzten Längsteilungen, nur daß die Teilungsprodukte innerhalb resp. auf demselben

[1]) Nachträglich fand ich auch bei *Schizotrypanum* ähnliche große multiple Vermehrungsformen in der Lunge, ebenfalls im Innern von Leucocyten (oder Endothelien). Hartmann.

Blutkörperchen verbleiben, was gleichfalls eine Annäherung an die Vermehrung bei den Plasmodien bedeutet. Die im Blute von Fledermäusen lebenden Arten der Gattung *Achromaticus* nehmen eine vermittelnde Stellung zwischen Piroplasmen und Malariaparasiten ein. Die Schizogonie erfolgt ganz wie bei den letzteren, doch entstehen nur vier Teilstücke, die birnförmige Gestalt annehmen und sich häufig über Kreuz anordnen (Gonder), wie dies von dem Erreger des Küstenfiebers der Rinder bekannt ist. Das Endglied der Entwicklung bilden wiederum die an das intracelluläre Leben am meisten angepaßten Plasmodien, bei denen die einzelnen Parasiten nach einer Wachstumsperiode unter Zurücklassung eines kleinen Restkörpers in eine große Anzahl von „Merozoiten“ zerfallen.

In ähnlicher Weise läßt sich auch die phylogenetische Entwicklung der Sporogonie der Malariaparasiten verfolgen. Bei den Trypanosomen und Halteridien handelt es sich auch hier um einfache Zweiteilung. Bei *Leucocytozoon* aber wächst der Ookinet unter Kernvermehrung mächtig heran, um erst später eine Menge kleiner Individuen zu bilden. Bei den Plasmodien handelt es sich nun prinzipiell um den gleichen Vorgang, nur vollzieht sich die ganze multiple Vermehrung innerhalb einer vom Gewebe des Wirtstieres gelieferten cystenartigen Hülle. —

Copulation erfolgt bei den Blutprotozoen, soweit sie überhaupt schon festgestellt worden ist, wie erwähnt, im Darmtractus des Überträgers. Geschlechtlich mehr oder weniger differenzierte Formen treten in der Blutbahn des Wirbeltieres nach einer längeren Vermehrungsperiode auf; aber erst die mit dem Wirtswechsel verbundenen durchgreifenden Veränderungen der äußeren Lebensbedingungen lösen die Reifeteilungen (bzw. ihre Vollendung) aus, so daß die Befruchtung ermöglicht wird.

Bei den Gameten der Binucleaten können wir wiederum eine fortschreitende Entwicklung, und zwar in der Richtung der Ausbildung des Geschlechtsdimorphismus erkennen: Mit den Trypanosomen nahe verwandte Flagellaten (*Herpetomonas* [Prowazek 1904], wahrscheinlich auch *Trypanoplasma* [Keysselitz 1906]), die später besprochen werden sollen, zeigen so geringfügige sexuelle Unterschiede, daß man fast von einer (hologamen) Isogamie sprechen kann. Schon bei den Trypanosomen copulieren auch morphologisch recht differente Individuen, doch sind die Gegensätze zwischen männlichen und weiblichen Formen noch nicht allzu sehr ausgeprägt (Prowazek 1905, Baldrey 1909). Bei den Halteridien, Leucocytozoen und Malariaparasiten endlich sehen wir eine extreme Oogamie, die

durchaus mit den Verhältnissen bei den höchsten Metazoen verglichen werden kann.

Der ganze Lebenslauf und die verschiedensten Stadien der Binucleaten zeigen uns also neben größter Übereinstimmung die schrittweise Entwicklung von den freien Flagellaten zu den endoglobulären „Hämosporidien“ und bieten damit weitere sichere Stützen für den schon durch Vergleich des Kern- und Geißelapparates bewiesenen phylogenetischen Zusammenhang der Blutprotozoen.

Es fragt sich nun noch, wie die Ordnung der Binucleaten, zu der wir Hämoflagellaten und Hämosporidien vereinigen, abzugrenzen ist. Das Endglied dieser Entwicklungsreihe bilden, wie wir gesehen haben, die Malariaparasiten. Denn nachdem ihre Abstammung von trypanosomenartigen Flagellaten erkannt worden ist, sind sie natürlich von den Coccidien, mit denen man sie bisher zusammenstellte, scharf zu trennen.

Auch die Coccidien sind von Flagellaten abzuleiten, doch bilden sie wohl das Ende einer anderen unbekannten Entwicklungsreihe, die von zweigeißeligen Formen auszugehen scheint (Hartmann). Cytologisch sind sie von den Plasmodien sehr verschieden, so fehlt ihnen auf allen Stadien der für sämtliche Blutprotozoen charakteristische Kinetonucleus und der eigentliche Kern ist meist komplizierter gebaut. Die Übereinstimmung beschränkt sich also im wesentlichen auf den Entwicklungscyclus, den Wechsel von Schizogonie, oogamer Befruchtung und Sporogonie. Wie Hartmann aber ausgeführt hat, ist die Oogamie bei den verschiedensten Protistengruppen selbständig erworben worden, während sich die Schizogonie bei Plasmodien wie Coccidien in Anpassung an ähnliche — intracelluläre — Lebensbedingungen entwickelt hat. Die Sporogonie aber verläuft bei beiden Gruppen in völlig verschiedener Weise. Der ganze Entwicklungscyclus endlich beweist gleichfalls nicht das geringste, findet er sich doch bei parasitischen Amöben ganz entsprechend ausgebildet, die doch sicherlich weder mit den Coccidien noch mit den Malariaerregern nahe verwandt sind.

Hervorzuheben ist aber an dieser Stelle, daß nach unseren jetzigen Kenntnissen ein Teil der zur Gattung *Haemogregarina* (und *Hepatozoon*) gerechneten Formen, vor allem die Hämogregarinen der Schlangen und der Säugetiere, sicher nicht zur Ordnung der Binucleaten gehört, da sie sich offenbar von allen übrigen im Blute lebenden Protozoen wesentlich unterscheiden: In keinem Falle konnte bei ihnen bisher ein Kinetonucleus festgestellt werden; auch der Kern zeigt einen von dem der anderen Blutprotozoen abweichen-

den Bau und entspricht viel mehr den Kernen der Coccidien und Gregarinen. Das Gleiche gilt (nach noch unveröffentlichten Untersuchungen von HARTMANN u. CHAGAS [1])) für die multiple Vermehrung und Gametenbildung. Ferner gelangen die Parasiten — nach den Untersuchungen von MILLER bei *Hepatozoen* — vom Darme aus in die Blutbahn. Man darf daher wohl annehmen, daß dieser Teil der Hämogregarinen auf Coccidien zurückzuführen ist, die aus der Leber ins Blut geraten sind und keine Beziehungen zu den übrigen Blutprotozoen haben.

Die Erkenntnis der Zusammengehörigkeit aller übrigen von uns besprochenen Blutprotozoen und ihre systematische Abgrenzung wird durch diese Ansicht natürlich überhaupt nicht beeinflußt, da wir ja bei allen anderen Hämosporidien (Halteridien, Piroplasmen, Plasmodien, auch *Lankesterella* und ein Teil der zur Gattung *Haemogregarina* gestellten Arten) die Beziehungen zu den Hämoflagellaten mit Sicherheit nachgewiesen haben.

Es erscheint uns daher verfehlt, wenn DOFLEIN auch in der Neuauflage seines Protozoenbuches die ganze Gruppe der „Hämosporidien" noch bei den „Telosporidien" beläßt und sie gar mit den Coccidien zu einer Unterordnung zusammenfaßt und so den Gregarinen gegenüberstellt. Eher ließe sich noch auf Grund der neueren Untersuchungen (LÉGER u. DUBOSCQ, MOROFF, BRASIL, SCHELLACK u. a.) eine nähere Vereinigung von Coccidien und Gregarinen befürworten.

Während also die Plasmodien an das Ende der Binucleaten gestellt werden müssen, haben wir am Anfang noch einige Gattungen hinzuzufügen, die zwar zumeist keine Blutparasiten sind, aber gerade den Ursprung dieser ganzen Protozoengruppe erkennen lassen.

Es wurde bereits erwähnt, daß die Trypanosomen in Kulturen ihre Gestalt verändern, indem vor allem der Blepharoplast vor den Hauptkern rückt und infolgedessen aus der Saumgeißel eine gewöhnliche freie Geißel wird (s. Fig. 2). Diese Kulturformen gleichen dann vollkommenen Flagellaten, die im Darme verschiedener Insekten leben und als Crithidien (bzw. *Leptomonas*) beschrieben worden sind. Die Übereinstimmung ist sogar eine so große, daß man wohl Trypanosomen und Crithidien zu einer Familie zusammenfassen muß. Da nun Crithidien auch im Darme blutsaugender Insekten und anderer Wirbellosen vorkommen, so ist die Annahme wohl berechtigt,

[1]) Anmerkung bei der Korrektur. Zu dem gleichen Ergebnis ist inzwischen unabhängig hiervon auch E. REICHENOW bei *Haemogregarina stepanovi* (aus der Schildkröte) gekommen (Vortrag in der Gesellschaft naturf. Freunde in Berlin).



daß wir die Trypanosomen (wie überhaupt fast sämtliche Blutprotozoen) von derartigen Darmparasiten abzuleiten haben (Léger).

Aus dieser Auffassung ergibt sich ohne weiteres, daß die Bezeichnung „Zwischenwirt" für den Überträger zu verwerfen ist, da dieser ja vielmehr umgekehrt den eigentlichen Wirt, und das Wirbeltier den Zwischenwirt darstellt, eine Bezeichnung, die auch schon von Grassi in Analogie mit der für die parasitischen Würmer gebräuchlichen Nomenklatur gewählt worden ist.

Für die Trypanosomen der Säugetiere wurde von Minchin eine phylogenetische Entwicklung aus Darmparasiten desselben Wirtes angenommen. Erst nachträglich sollen von den Trypanosomen aus die Darmparasiten der Insekten (*Leptomonas*) entstanden sein. Für eine derartige Annahme liegt jedoch, wie bereits Roubaud kürzlich näher ausgeführt hat, kein stichhaltiger Grund vor. Bei *Hepatozoon* freilich gelangen die Sporozoiten nach Miller vom Darm aus in die Blutbahn (die Ratten infizieren sich durch Fressen der die Sporocysten enthaltenden Acarinen), aber bei diesem bisher alleinstehenden Falle handelt es sich wohl sicher um sekundär zustande gekommene Verhältnisse. die außerdem nur zugunsten der schon oben (S. 94) mitgeteilten Ansicht sprechen können, daß ein Teil der „Hämogregarinen" überhaupt nicht zu den Binucleaten, sondern zu Coccidien und Gregarinen zu stellen ist. Die Ableitung sämtlicher Trypanosomen von eingeißeligen Insektendarmflagellaten wird hierdurch natürlich in keiner Weise berührt.

Abgesehen von dem theoretischen Interesse, das die Gattung *Leptomonas* (*Crithidia*) daher als Stammform der Blutprotozoen besitzt, haben ihre Angehörigen auch dadurch große Bedeutung erlangt, daß sie sehr leicht zu Verwechslungen mit Stadien von Blutparasiten Anlaß geben. Denn wie in Kulturen, so nehmen auch im Darm des Überträgers die Trypanosomen Crithidiaform an, und das gleiche gilt von *Schizotrypanum*, *Haemoproteus* und den Kalaazárparasiten. Morphologisch sind sie alle im Insektendarm von echten *Leptomonas*-(*Crithidia*-)Arten kaum oder gar nicht auseinanderzuhalten.

Während man nun früher nur zu geneigt war, alle im Darme blutsaugender Insekten gefundenen Flagellaten als Entwicklungsstadien von Blutprotozoen anzusprechen, sind in der letzten Zeit manche Forscher (Novy, Patton u. a.) in den entgegengesetzten Fehler verfallen und rechnen Crithidiaformen aus dem Darme blutsaugender Wirbelloser vorschnell auch zur Gattung *Leptomonas* (*Crithidia*). Zur Vorsicht mahnen muß da das Beispiel des *Schizo-*

trypanum cruzi, von dem ja zunächst auch nur die Crithidiaform aus dem Darme der Wanze (*Conorhinus*) vorlag, das sich aber bei Übertragungsversuchen als echter Blutparasit herausstellte. Denn wie die weiteren Untersuchungen von CHAGAS klar zeigen, handelt es sich auch bei dieser Art natürlich um keine künstlich erzeugte Mutation im Sinne der theoretischen Konstruktionsversuche DOFLEIN'S, sondern um die normale Entwicklung eines trypanosomenartigen Parasiten innerhalb zweier Wirte (Mensch und *Conorhinus megistus* BURM.).

Über die systematische Stellung eines crithidiaartigen Flagellaten entscheidet eben erst sein ganzer Entwicklungscyclus, und da wir in dieser Hinsicht noch bei vielen Formen sehr wenig wissen, so ist es, wie bereits PROWAZEK (1909) hervorgehoben hat, wohl möglich, daß sich manche heute als *Leptomonas* (*Crithidia*) angesehene Arten in Zukunft doch noch als Stadien von Blutprotozoen herausstellen. Die morphologische Übereinstimmung einzelner oder sogar vieler Entwicklungsformen beweist bei dem gemeinsamen Ursprung der Binucleaten nichts für die Zugehörigkeit zur gleichen Gattung oder selbst Familie.

Das Auftreten von Flagellatenformen bei *Schizotrypanum*, *Haemoproteus*, Piroplasmen u. a. zeigt zwar deutlich den phylogenetischen Zusammenhang der Blutprotozoen; alle diese Parasiten dürfen deswegen aber noch lange nicht als *Trypanosoma* oder *Leptomonas* (*Crithidia*) bezeichnet werden, sondern bilden nach wie vor selbständige, wenn auch nahe verwandte Gattungen und Familien.

Ebenso scheint es verfehlt, die Erreger der Kalaazár und der Orientbeule zur Gattung *Leptomonas* (oder gar wie PATTON zu *Herpetomonas* s. u.) zu stellen. Gewiß zeigen Flagellaten- wie geißellose Stadien bei beiden mit den entsprechenden Formen der Insektenparasiten große morphologische Übereinstimmung, was ja aber bei der nahen Verwandtschaft der Binucleaten nicht wundernehmen kann. Daneben haben sich jedoch wie bei den anderen Blutprotozoen manche Veränderungen eingestellt, die dazu zwingen, die Gattung *Leishmania* auch weiterhin beizubehalten. Zu nennen wäre hier die intracelluläre Lebensweise und das Fehlen der Cystenbildung; auch ist die Existenz eines „Postflagellatenstadiums“ im Überträger noch recht zweifelhaft.[1]) Darin stimmen wir mit PATTON natürlich über-

[1]) Ob allerdings eine besonders nahe Verwandtschaft zwischen *Leishmania* und *Babesia* besteht, wird erst nach genauerer Kenntnis der Entwicklung der Piroplasmen im Überträger sichergestellt werden. Sehr möglich ist es, daß wir dann entweder die ganze Familie der Piroplasmiden oder doch *Leishmania* weit näher zu den Trypanosomiden stellen müssen, als dies jetzt geschieht.

ein, daß die Kalaazárerreger zu den Flagellaten gerechnet werden müssen — nur gilt dies eben in gleicher Weise für fast alle Blutprotozoen. Denn die ganze Gruppe der „Hämosporidien" stellt, wie wir gezeigt haben, nichts anderes dar, als Flagellaten, bei denen das Stadium mit Geißel im Laufe der phylogenetischen Entwicklung immer mehr in den Hintergrund gedrängt worden ist.

Wie nun die Gattung *Leptomonas* (*Crithidia*) wohl den Ausgangspunkt für alle Blutprotozoen [1]) (immer unter Nichtberücksichtigung der Spirochäten und eines Teiles der „Hämogregarinen") bildet, so lassen sich in anderer Weise noch weitere Formen auf sie zurückführen.

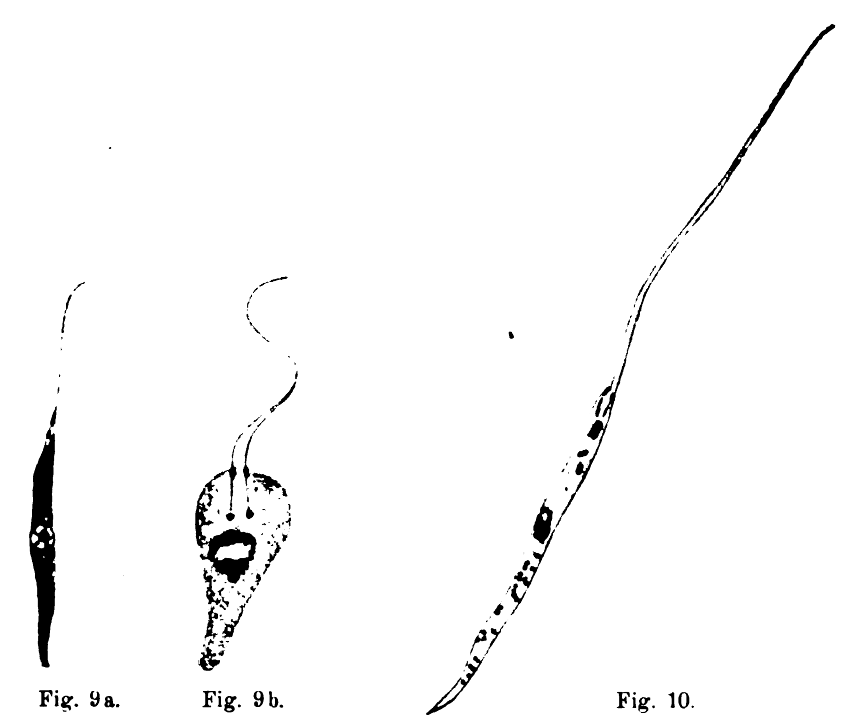


Fig. 9a. Fig. 9b. Fig. 10.

Fig. 9. a) *Leptomonas iaculum*, b) Beginn der Teilung (nach Berliner).
Fig. 10. *Herpetomonas muscae domesticae* (nach Lingard u. Jennings).

Zu nennen ist hier die Gattung *Herpetomonas*, deren Angehörige gleichfalls im Darme von Insekten (Musciden) vorkommen und vor allem durch den Besitz zweier nach vorn gerichteter und miteinander verbundener Geißeln charakterisiert sind (Fig. 9). Die Ent-

[1]) Mit Ausnahme der Gattung *Trypanoplasma* s. u.

stehung der Herpetomonaden aus leptomonasartigen Formen zeigt uns wohl *Leptomonas iaculum* (Fig. 10). Bei diesem Parasiten der Wasserwanze (*Nepa cinerea*) erfolgt nämlich die Teilung des Blepharoplasten und die Bildung einer neuen Geißel so früh, daß er nur während kurzer Zeit als eingeißelig erkannt werden kann (BERLINER 1909).

Betont sei aber, daß *Herpetomonas*, wie PROWAZEK (1904) gezeigt hat und LINGARD u. JENNINGS sowie ROUBAUD bestätigen, bereits während ihres ganzen Entwicklungsganges zweigeißelig ist. Einwandfrei bewiesen wird dies vor allem dadurch, daß auf gewissen Teilungsstadien vier Geißelfibrillen vorhanden sind (PROWAZEK). Gegenüber diesen Fesstellungen haben die negativen Angaben PATTON's natürlich überhaupt keine Bedeutung.

Demgemäß ist auch die in der letzten Zeit entstandene Verwirrung in der Nomenklatur unbegründet: Zur Gattung *Herpetomonas* gehören (entsprechend dem Paradigma *H. muscae domesticae*) nur zweigeißelige Formen. Alle Insektendarmparasiten mit Kern, Kinetonucleus und nur einer Vordergeißel sind zur Gattung *Leptomonas* (KENT) zu stellen, da dieser Name, wie CHATTON u. ALILAIRE ausgeführt haben, aus Prioritätsgründen vor der sonst üblichen Bezeichnung *Crithidia* den Vorrang hat. Eine weitere Einteilung der eingeißeligen Formen, je nach der Lage des Blepharoplasten (im vorderen Ende oder unmittelbar am Kern) und dementsprechend auch der Beschaffenheit der Geißel (freie Geißel oder Art undulierender Membran) scheint uns bei den großen Schwankungen, denen gerade diese Merkmale auch bei den Angehörigen derselben Art unterliegen können, nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse nicht zweckmäßig.

Von herpetomonasartigen Formen glaubten wir anfangs auch die gleichfalls zweigeißelige Gattung *Trypanoplasma* ableiten zu können unter der Annahme, daß die eine Geißel sich nach rückwärts umböge und durch teilweise Verschmelzung mit dem Körper zur undulierenden Membran würde. Die Beschreibung von *Prowazekia cruzi* nov. gen. n. sp. durch HARTMANN u. CHAGAS (1910) hat jedoch gezeigt, daß wir hier einen freilebenden [1]) nahen Verwandten von *Trypanoplasma* vor uns haben. Dieses schon früher von PROWAZEK (1902) als *Bodo spec.* abgebildete Flagellat ist nämlich von der Gattung *Bodo* scharf zu trennen, da es als einzige bekannte freilebende Form

[1]) Nur seine Cysten finden sich gelegentlich im Darme von Wirbeltieren und das Flagellat kann dann aus Fäces gezüchtet werden.



einen Kinetonucleus besitzt (s. Fig. 11). In seiner ganzen Organisation ähnelt es den Trypanoplasmen sehr und unterscheidet sich nur durch die freie Schleppgeißel. Indem diese mit dem Körper verklebt, kommt es zur Bildung der undulierenden Membran von *Trypanoplasma* (Fig. 12).[1] Da nun Trypanoplasmen nicht nur im Blute, sondern auch im Darme von Wirbeltieren sowie in mit der Außenwelt kommunizierenden Organen von Wirbellosen (z. B. den

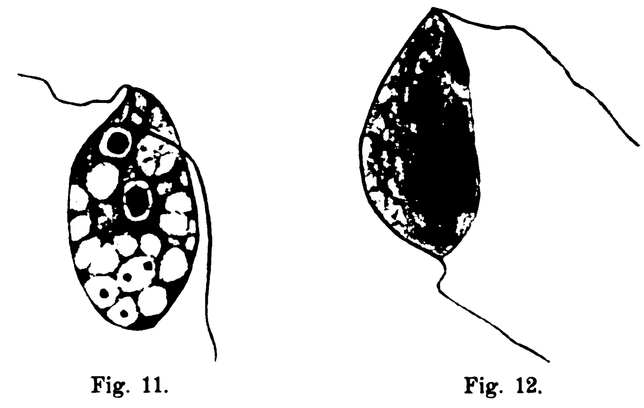


Fig. 11. Fig. 12.

Fig. 11. *Prowazekia cruzi* (nach Hartmann u. Chagas).
Fig. 12. *Trypanoplasma helicis* (Original nach Präparat von Dr. Hammer).

Geschlechtsorganen von *Helix*) gefunden werden, so haben wir hier einen Weg der Entstehung dieser Hämoflagellatengattung klar vor uns.

Die Untersuchungen von Hartmann u. Chagas erbringen zugleich den Nachweis, daß tatsächlich nur den hier behandelten Formen ein besonderer Geißelkern (Blepharoplast) zukommt, während die übrigen bekannten Flagellaten höchstens einfache Basalkörner besitzen. Doflein's Behauptung in seinem Lehrbuche, daß „das Vorkommen von Blepharoplasten bei den Flagellaten nicht auf die von Hartmann zusammengefaßten Formen beschränkt“ sei, ist somit unrichtig und nur durch das Verkennen der nicht mehr zweifelhaften Kernnatur des sog. Blepharoplasten (Kinetonucleus) verursacht.

Auf zweigeißelige trypanoplasmenartige Formen wollen nun, einem früheren Gedanken Schaudinn's folgend, manche Forscher —

[1] Wie aus der Figur ohne weiteres zu ersehen ist, hat auch *Trypanoplasma helicis* die typische Kernstruktur der Binucleaten, besitzt also auch — trotz der abweichenden Angaben von Friederich (1909) — ein leicht erkennbares Caryosom im Hauptkern.

so Woodcock in seiner neuen Bearbeitung der Hämoflagellaten — noch immer einen Teil der eingeißeligen Blutprotozoen zurückführen. Heute läßt sich aber schwerlich noch irgendein stichhaltiger Grund für einen „polyphyletischen Ursprung der Trypanosomen“ anführen, sondern alles spricht für die gemeinsame Abstammung sämtlicher eingeißeliger Blutparasiten von leptomonasartigen Flagellaten; ist doch auch die gern herangezogene verschiedene Agglomerations- und Anheftungsweise (mit dem vorderen oder hinteren Ende) viel einfacher und plausibler mit Prowazek aus der Lage des Blepharoplasten zu erklären.

Nur bei der ganzen Ordnung der Binucleaten darf man insofern von einem biphyletischen Ursprung reden, als die Familie der Trypanoplasmiden durch die Gattung *Prowazekia* von den Bodonaceen, die übrigen Familien durch *Leptomonas* von Oicomonadaceen hergeleitet werden können. Ebenso gut wäre aber auch eine gemeinsame Abstammung von *Leptomonas* wie *Prowazekia* von *Oicomonas*-artigen Protomonadinen möglich.

Gewiß bedürfen diese letztgenannten Verhältnisse noch der weiteren Prüfung, wie auch bei den Blutparasiten unsere Kenntnisse noch in mancher Beziehung sehr lückenhaft sind; sie erlauben uns aber doch, die Grundzüge der Entwicklung schon heute als gesichert anzusehen. Die Phylogenie dürfte sogar nur bei wenigen Gruppen so klar zutage treten wie gerade hier.

Und die Erkenntnis der nahen Verwandtschaft aller Blutprotozoen und des Ganges der phylogenetischen Ausbildung zeigt uns deutlich, wo die Forschung der nächsten Zeit auf diesem Gebiete einzusetzen und in welcher Richtung sie sich vor allem zu bewegen hat.

Versuchen wir schließlich auf Grund der von uns verfolgten vielfachen Übereinstimmungen ein natürliches System der Binucleaten aufzustellen, so ergibt sich:

Ordnung: ***Binucleata.***

1. Familie: ***Trypanoplasmidae.***

1. Gattung: *Prowazekia* (HARTMANN et CHAGAS).
2. „ : *Trypanoplasma* (LAVERAN et MESNIL).

2. Familie: ***Trypanosomidae.***

1. Gattung: *Leptomonas* (KENT em. CHATTON et ALILAIRE).
2. „ : *Herpetomonas* (KENT em. PROWAZEK).
3. „ : *Trypanosoma* (GRUBY).
4. „ : *Schizotrypanum* (CHAGAS).
5. „ : *Endotrypanum* (MESNIL et BRIMONT).

3. Familie: ***Halteridiidae.***

Gattung: *Haemoproteus* (KRUSE).

4. Familie: ***Leucocytozoidae.***

Gattung: *Leucocytozoon* (DANILEWSKY).

5. Familie: ***Haemogregarinidae.***

1. Gattung: *Haemogregarina* (DANILEWSKY) (pro parte).
2. „ : *Caryolysus* (LABBÉ). (?)
3. „ : *Lankesterella* (LABBÉ).

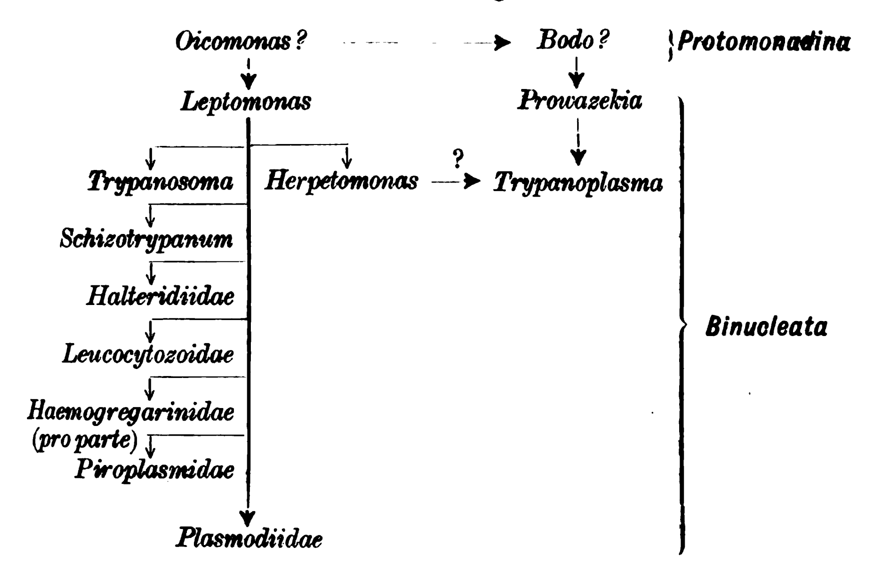
6. Familie: ***Piroplasmidae.***

1. Gattung: *Leishmania* (ROSS).
2. „ : *Toxoplasma* (NICOLLE).
3. „ : *Babesia (Piroplasma)* (STARCOVICI).

7. Familie: ***Plasmodiidae.***

1. Gattung: *Achromaticus* (DIONISI).
2. „ : *Polychromophilus* (DIONISI).
3. „ : *Proteosoma* (LABBÉ).
4. „ : *Plasmodium* (MARCHIAFAVA et CELLI).

Anschaulicher lassen sich die verwandtschaftlichen Beziehungen nach Art eines Stammbaumes etwa folgendermaßen darstellen:



Literaturverzeichnis.

ARAGAO, H. DE BEAUREPAIRE (1908): Über den Entwicklungsgang und die Übertragung von Haemoproteus columbae. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.

BALDREY, F. S. H. (1909): Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosoma lewisi in der Rattenlaus Haematopinus spinulosus. Arch. f. Protisenk. Bd. 15.

BALFOUR, A. (1906): A Haemogregarine of mammals. in: Second. Rep. Wellcome Res. Lab. Khartoum.

BERENBERG-GOSSLER, v. (1909): Beiträge zur Naturgeschichte der Malariaplasmodien. Arch. f. Protistenk. Bd. 16.

BERLINER, E. (1909): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

BREINL, A. and HINDLE (1908): Contribution to the morphology and life history of Piroplasma canis. Ann. trop. Med. and Parasit. Vol. 2.

CHAGAS, C. (1909a): Neue Trypanosomen, T. minasense n. sp., T. cruzi n. sp. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.

— (1909b): Über eine neue Trypanosomiasis des Menschen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg.

— (1909c): Schizotrypanum cruzi. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz T. 1 Nr. 2 Rio de Janeiro.

CHATTON, E. et ALILAIRE, E. (1908): Coexistence d'un Leptomonas et d'un Trypanosoma chez un Museide non vulnérant Drosophila confusa STAEGER. C. R. Soc. Biol. p. 1004.

DOFLEIN, F. (1909a): Probleme der Protistenkunde. I. Die Trypanosomen. Jena (G. Fischer).

— (1909b): Lehrbuch der Protozoenkunde. (2. Aufl. der „Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger".) Jena (G. Fischer).

FRANÇA, C. (1908): Quelques notes sur l'Haemogregarina splendens (LABBÉ). Arch. do real. inst. Camara Pestana T. II.

FRANÇA, C. u. ATHIAS. M. (1907): Recherches sur les Trypanosomes des Amphibiens. Ibid. T. I.

FRIEDRICH, L. (1909): Über Bau und Naturgeschichte des Trypanoplasma helicis (LEIDY). Arch. f. Protistenk. Bd. 14.

GONDER, R. (1906): Achromaticus vesperuginis. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 24.

GONDER, R. u. v. BERENBERG-GOSSLER, H. (1908): Untersuchungen über Malariaplasmodien der Affen. Malaria Bd. I.

GRASSI, B. (1901): Die Malaria. 2. Aufl. Jena (G. Fischer).

HARTMANN, M. (1907a): Das System der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

— (1907b): Praktikum der Protozoologie in KISSKALT-HARTMANN's Praktikum der Bakteriologie u. Protozoologie. Jena (G. Fischer).

HARTMANN, M. u. CHAGAS, C. (1910): Flagellatenstudien. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz T. 1 No. 3 Rio de Janeiro.

KEYSSELITZ, G. (1906): Generations- und Wirtswechsel von Trypanoplasma borelli. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

KINOSHITA (1907): Untersuchungen über Babesia canis. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

KLEINE, F. (1909): Positive Infektionsversuche mit Trypanosoma brucei durch Glossina palpalis. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 11.



KLEINE, F. (1909 a): Weitere wissenschaftliche Beobachtungen über die Entwicklung von Trypanosomen in Glossinen. Ibid. Nr. 21.

— (1909 b): Weitere Untersuchungen über die Ätiologie der Schlafkrankheit. Ibid. Nr. 29.

— (1909 c): Weitere Beobachtungen über Tsetsefliegen und Trypanosomen. Ibid. Nr. 45.

KOCH, R. (1905): Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Deutsch-Ostafrika. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 47.

— (1907): Bericht über den Verlauf der deutschen Expedition zur Erforschung der Schlafkrankheit bis zum 25. November 1906. Ibid. Nr. 2.

KOCH, R., BECK, M. u. KLEINE, F. (1909): Bericht über die Tätigkeit der zur Erforschung der Schlafkrankheit im Jahre 1906/07 nach Ostafrika entsandten Kommission. Berlin (J. Springer). Auch in: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 31.

LAVERAN et MESNIL, F. (1901): Deux Hémogrégarines nouvelles des poissons. C. R. Acad. des Sciences Paris p. 572.

LÉGER, L. (1904): Sur les affinités de l'Herpetomonas subulata et la phylogénie des Trypanosomes. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 57 p. 614.

LINGARD, A. u. JENNINGS, E. (1906): Some flagellate forms found in the intestinal tracts of diptera and other genera. London Adlard and son.

LÜHE, M. (1906): Die im Blute schmarotzenden Protozoen und ihre nächsten Verwandten. in: MENSE's Handbuch d. Tropenkrankh. Bd. 3. Leipzig (J. A. Barth).

MESNIL, F. et BRIMONT (1908): Sur un hématozoaire nouveau (Endotrypanum n. g.) d'un édenté de Guyane. C. R. Soc. Biol. Vol. 65 p. 581.

MILLER, W. (1908): Hepatozoon perniciosum, a haemogregarine pathogenic for white rats etc. Treasury Dpmt. Public Health and Marine Hosp. Serv. U. S. Hygienic Lab. Bull. No. 46 Washington.

MINCHIN, E. A. (1908): Investigations on the development of trypanosomes in the tsetse flies and other diptera. Quart. Journ. Micr. Science Vol. 52.

NEUMANN, R. O. (1908): Die Übertragung von Plasmodium praecox auf Kanarienvögel durch Stegomyia fasciata und die Entwicklung der Parasiten im Magen und den Speicheldrüsen dieser Mücke. Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

— (1909): Studien über protozoische Parasiten im Blute von Meeresfischen. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 64.

NICOLLE, C. et SICRE, A. (1908): Recherches sur le Bouton d'Orient. Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis.

NOVY, F. (1906): The Trypanosomes of Tsetse Flies. Journ. Inf. Diseases Vol. 3.

NOVY and MC NEAL (1905): On the Trypanosomes of Birds. Journ. Inf. Diseases Vol. 2.

NOVY, MC NEAL and TORREY (1907): The Trypanosomes of Mosquitoes and other Insects. Journ. Inf. Diseases Vol. 4.

PATTON, W. S. (1907): The development of the Leishman-Donovan parasite in Cimex rotundatus. Second report. Scient. mem. by offic. of the med. and sanit. depart. of the govern. of India. New series No. 31.

— (1909): Herpetomonas lygaei. Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

PATTON, W. and STRICKLAND, C. (1908): A critical review of the relation of bloodsucking invertebrates to the life cycles of the trypanosomes of vertebrates etc. Parasitology Vol. I.



Prowazek, S. v. (1904): Die Entwicklung von Herpetomonas. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20.

— (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. Ibid. Bd. 22.

— (1907): Untersuchungen über Hämogregarinen. Ibid. Bd. 26.

— (1909): Kritische Bemerkungen zum Trypanosomenproblem. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 13.

Robertson, M. (1906): Notes on certain blood-inhabiting Protozoa. Proc. royal phys. Soc. Edinburgh Vol. 16.

Rogers (1904): On the development of flagellated organisms from the spleen protozoic parasites of Cachexial fever and Kala azar. Quart. Journ. Micr. Sciences Vol. 48.

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Roubaud (1909): La glossina palpalis in „Rapport de la Mission d'études de la malade du sommeil au Congo Français (1906—1908)“. Paris, Masson.

Salvine Moore, J. E. and Breinl, A. (1907): The cytology of the Trypanosomes. Part. I. Ann. of Tropical Medicine and Parasitology Vol. I.

— — (1908): The life-history of Trypanosoma equiperdum. Proceedings of the Royal Society Vol. 80.

Salvin Moore, J. E., Breinl, A. and Hindle, E. (1908): The life-history of Trypanosoma lewisi. Ann. of Tropic. Med. and Parasit. Vol. II.

Schaudinn, F. (1902): Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 19.

— (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. Ibid. Bd. 20.

Sergent, Edm. et Etienne (1908): Sur la structure fine des sporozoites de Plasmodium relictum (Proteosoma). C. R. Acad. Sc. Paris.

Splendore (1909): Sopra un nuovo protozoa parasite de conegli. Revista Soc. Scient. Sao Paolo Vol. 4.

Wenyon, C. M. (1909) in: 3. Rep. Wellcome Res. Lab. Khartoum.

Woodcock, H. M. (1909): The Haemoflagellates and allied forms in „A Treatise on Zoology“, edited by Ray Lankester.

(Aus der Parasitologischen Abteilung des Hygienischen Instituts zu Bonn.)

Untersuchungen über die Gregarinen im Darm der Larve von *Tenebrio molitor*.

Von
E. Pfeffer.

(Hierzu Tafel III.)

Die im folgenden beschriebenen Beobachtungen sind Resultate von Untersuchungen, deren Zweck es war, zur Klärung verschiedener noch fraglicher Punkte in der Entwicklung der im Mehlwurmdarm schmarotzenden Polycystiden beizutragen.

Es galt in erster Linie zu entscheiden, ob diese Parasiten ein völlig intracelluläres Stadium in ihrer Entwicklung aufweisen oder nicht.

Ein anderer Punkt, der in der Entwicklung der Mehlwurmgregarinen noch nicht aufgeklärt war, ist der, ob sich die Parasiten im Innern ihres Wirtes vermehren, oder ob eine Fortpflanzung nur in encystiertem Zustande außerhalb des Wirtes vorkommt. Die Vermutung, daß auch die Polycystiden unter den Darmgregarinen sich innerhalb des Wirtes vermehren, gründet sich:

1. auf den völlig bekannt gewordenen Zeugungskreis mancher im Darm und im Coelom schmarotzender Monocystiden, der eine sich im Wirt vermehrende Generation umschließt (Caullery et Mesnil (4), Józef Nusbaum (10));

2. auf das oft massenhafte Auftreten der Parasiten auf verschiedenen Entwicklungsstufen in einem Individuum.



Als Untersuchungsobjekte wählte ich die im Darm der Larve von *Tenebrio molitor* schmarotzenden Gregarinen, weil von diesen leicht genügend Material zu beschaffen ist, und weil schon an ihnen Untersuchungen zu gleichen Zwecken angestellt worden sind. Ich denke hier besonders an die Arbeiten von Berndt (2) und Léger et Duboscq (8).

Zur Untersuchung gelangten Darmausstriche und -schnitte, die nach verschiedenen Methoden gefärbt wurden. Die besten Präparate erhielt ich bei Anwendung des Heidenhain'schen Eisenalaun-Hämatoxylins. Delafield's Hämatoxylin lieferte weniger scharfe Kernbilder; Hämalaun verblaßte nach kurzer Zeit. Zu dem besonderen Zweck der Schleimfärbung wandte ich in einigen Fällen Thionin an. Es möge gleich an dieser Stelle eingeschaltet werden, daß bei der Thioninfärbung an großen Sporonten deutlich rote Pünktchen an der Körperoberfläche, besonders am Protomerit, auftraten. Zweifellos handelt es sich dabei um eine metachromatische Färbung der von mehreren Autoren beschriebenen Gallerttröpfchen, die aus dem Gregarinenkörper austreten. — Als Fixierungsmittel diente Sublimatalkohol in der Zusammensetzung nach Schaudinn. Ich möchte nur noch erwähnen, daß das lästige Fortschwemmen der Präparate bei der Behandlung mit heißem Sublimatalkohol vermieden wurde, indem ich die Deckglasausstriche in einem Tropfen der Fixierungsflüssigkeit ausführte und so etwas antrocknen ließ. Auf diesem Wege veranlaßte das Trocknen keine Schrumpfungen.

Da ich nicht mit Reininfektionen gearbeitet habe, die genaue Systematik der Mehlwurmgregarinen überdies noch nicht völlig feststeht, kann ich für die beobachteten Stadien die betreffenden Arten nicht mit Sicherheit angeben. Ich fand als erwachsene Tiere hauptsächlich die Arten *Clepsidrina polymorpha* und *Clepsidrina cuneata*. Daher werden die beschriebenen intracellulären Stadien in den meisten Fällen diesen Arten angehören.

Nur bei einzelnen Larven wurde im Darm *Steinina ovalis* mit den charakteristischen, von Léger et Duboscq (8) beschriebenen Epimeritrückbildungen angetroffen.

Was nun die Vorgeschichte der bisher beobachteten intracellulären Stadien bei den Mehlwurmgregarinen betrifft, so ist in der Arbeit von Berndt (2) nur in einem Fall ausdrücklich von einem solchen die Rede. Er sagt in seinem „Beitrag zur Kenntnis der im Darm von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen“: „Die jüngsten kugeligen Gregarinen sind ganz von der Epithelzelle eingeschlossen.“

Aimé Schneider stellte für verschiedene Polycystideen intracelluläre Stadien fest.

Léger et Duboscq (8) glauben alle derartigen Behauptungen auf einen Irrtum zurückführen zu müssen, obgleich sie ursprünglich selbst der Meinung waren, beim Mehlwurm intracelluläre Gregarinenstadien beobachtet zu haben. Sie nehmen an, daß eine Verwechslung mit Schleimballen, wie sie von Zellen im Zustande schleimiger Degeneration ausgeschieden werden, vorliege: „Boules homogènes ou vacuolaires, sphériques ou ovoides, isolées ou accolées et contenant soit des grains, soit des karyosomes, soit des pseudonoyaux, certaines de ces formes simulant tellement des sporozaires que les spécialistes les plus avisés s'y sont mépris."

Dieser Auffassung schließt sich Lühe (9) in seiner zusammenfassenden Arbeit über „Bau und Entwicklung der Gregarinen I" an.

Die von Léger und Duboscq erwähnten chromatinhaltigen oder chromatinfreien Schleimballen habe ich ebenfalls in den Epithelzellen des Larvendarms beobachtet. Sie stimmten durchaus mit den von Léger und Duboscq abgebildeten überein. Trotzdem steht es bei den von mir studierten Präparaten von Mehlwurmdärmen ganz außer Zweifel, daß einige Darmepithelzellen außerdem Jugendstadien von Gregarinen beherbergen. Die beobachteten Stadien intracellulärer Gregarinen sind mit jenen Schleimballen nicht zu verwechseln, da sie im Präparat von diesen wesentlich verschiedene Bilder liefern.

Die in der Darmzelle schmarotzenden Gregarinen stellen runde oder ovale Körperchen dar und zeigen in der Regel eine wabige, amöbenartige Plasmastruktur. Ihr Kern wird durch eine kompakte Masse von äußerst stark färbbarer Substanz gebildet; seine Form ist meistens rund, seltener oval bis langgestreckt. Ein weiteres Charakteristikum für diese intracellulären Parasiten besteht darin, daß sie stets in einem — ich möchte sagen — leer gefressenen Raum innerhalb der Wirtszelle liegen; sie sind also nicht wie die Schleimballen allseitig dicht vom Cytoplasma umschlossen.

Am häufigsten waren die Flimmerzellen des Mitteldarms mit intracellulären Gregarinen besetzt. Seltener wurden im Vorderdarm, nie im Enddarm solche beobachtet. Die Parasiten lagen in den Darmepithelzellen stets in der Vorderhälfte, zwischen dem Kern und der dem Darmlumen zugewandten Vorderseite der Zelle.

Die infizierten Epithelzellen waren z. T. deformiert. Der Zellkern zeigte oft Hypertrophie, und der Zellleib war an der Stelle, wo die Gregarine lag, meistens mehr oder weniger aufgetrieben

(Fig. 1). Daß der Raum nie ganz von den Parasiten ausgefüllt war, scheint mir eine Bestätigung der von Siedlecki (12) mehrfach ausgesprochenen Ansicht zu sein, daß die durch die schmarotzenden Gregarinen hervorgerufenen Zellvergrößerungen auf chemische, nicht auf rein mechanische Reizungen zurückzuführen sind.

In anderen Fällen war die Wirtszelle und ihr Kern nicht merklich verändert. Fast immer war bei den infizierten Wimperepithelzellen der Wimpersaum ganz oder zum größten Teil intakt geblieben. Durch Gregarinen völlig zerstörte Zellen habe ich nicht beobachtet, und wahrscheinlich bleiben die Zellen wohl deshalb davor bewahrt, weil die Parasiten nur während einer relativ kurzen Periode innerhalb der Zellen leben. Die Längenausdehnung der größten intracellulären Stadien betrug 8,75 μ, die der kleinsten Cephalonten 9,5 μ (Fig. 2, 3).

Die Fig. 4 und 5 scheinen mir den von Berndt beschriebenen und in seiner Fig. 50 abgebildeten Stadien zu entsprechen. Wie dort, liegen auch in den von mir gefundenen Fällen zwei bzw. vier Kerne in den ovalen Gregarinenkörpern. Eine so charakteristisch regelmäßige Anordnung der Kerne oder Kernstücke kommt bei den zufälligen Chromatinanhäufungen in Schleimballen nicht vor.

Um eine Verwechslung mit Schleimballen ganz auszuschließen, färbte ich eine Anzahl von diese Stadien aufweisenden Schnittpräparaten mit Thionin. Dieser Farbstoff färbt das Gewebe reinblau, dessen Kerne blauviolett und den Schleim rot. Es zeigte sich nun, daß die intracellulären Gregarinenstadien — genau wie die ausgewachsenen Exemplare — intensiv blaue, ihr Kern blauviolette Färbung annahmen (Fig. 2).

Die Auffindung der oben erwähnten zwei- und mehrkernigen jungen Gregarinen legten es nahe anzunehmen, daß eine Teilung der Parasiten noch innerhalb der Wirtszelle vor sich gehe. Tatsächlich fanden sich Epithelzellen, die zwei, drei und vier Parasiten umschlossen (Fig. 6, 7, 8, 9).

Der zu der Vermehrung der Parasiten führende Teilungsvorgang scheint wie bei der Schizogonie der Amöben auf amitotischem Wege zu erfolgen. Jedenfalls wurden Kernspindeln oder andere für die Mitose charakteristische Kernfiguren nicht beobachtet; nur der Kern des kleineren, heller gefärbten Parasiten auf Fig. 9 könnte vielleicht als in mitotischer Teilung begriffen angesehen werden. Doch steht dieser Fall unter den sehr zahlreich beobachteten vereinzelt da.

Die Zeichnungen können insofern nur ein unvollkommenes Bild der wirklichen Verhältnisse geben, als oft die kernhaltigen Stücke

der Gregarinen oder gar ein ganzer, noch in die dargestellte Zelle gehöriger Parasit im folgenden oder vorhergehenden Schnitt liegen. So beherbergt z. B. die stark hypertrophierte Zelle der Fig. 8 tatsächlich 4 Parasiten.

In einigen Fällen zeigten sich auch Stadien, an denen bereits Proto- und Deutomerit zu unterscheiden waren (Fig. 10).

Alle bisher beschriebenen Stadien befanden sich auf Schnittpräparaten. Auf die durch Ausstriche gewonnenen Präparate möchte ich in bezug auf diese jüngsten Gregarinenstadien nur sehr geringen Wert legen. Die beim Zerzupfen des Darms aus den Zellen heraustretenden Gregarinen sind in den meisten Fällen kaum mit Sicherheit von den in mannigfachsten Formen auftretenden Zerfallsprodukten des Darmepithels der Larve zu unterscheiden. Auch die Intensität der Färbung kann bei der unvermeidlichen ungleichmäßigen Dicke solcher Präparate nicht als Unterscheidungsmerkmal zwischen Parasiten und Gewebsteilen aufgestellt werden. In der Fig. 11 stelle ich eine Anzahl von Körperchen dar, deren Herkunft mir zweifelhaft erscheint. Einige machen ganz den Eindruck amöbenartiger, in lebhafter Schizogonie befindlicher Wesen. Doch können sehr leicht derartige Stadien durch Degenerationsprodukte des Darmepithels vorgetäuscht werden. Oft ist große Ähnlichkeit mit den Abbildungen vorhanden, die Henneguy (6) nach Anglas (1) von zerfallenden Darmepithelzellen bei der Metamorphose der Insekten gibt.

Auffallend war das häufigere Auftreten der in Fig. 12 dargestellten Form. Der dunkler gefärbte Hauptteil des Körpers enthält einen Kern; an den Seiten des heller gefärbten rundlichen Fortsatzes liegen zwei Chromatinkörnchen. Ich nehme an, daß es sich bei diesen Formen bestimmt um Gregarinenstadien handelt.

Auf Grund der oben beschriebenen Beobachtungen komme ich zu dem Schlusse:

1. Die jüngsten Stadien der Mehlwurmgregarinen leben völlig intracellulär.

2. Auf diesem Stadium können sich die Parasiten — vielleicht nur bei besonders günstigen Nahrungsverhältnissen — durch Teilung vermehren. Diese letzte Behauptung steht im Widerspruch mit Cuénot's (5) Auffassung vom Entwicklungsgang der gesamten Gattung Gregarina.

Im Darm der Puppen von *Tenebrio molitor* fand ich niemals Gregarinen.

Einmal traten im Epithel des Mitteldarms eines Käfers Körper auf, die der Größe und Form nach den intracellulären Gregarinenstadien des Larvendarms glichen. Doch war die Färbung dieser Körper auffallend blaß; auch ließen sich Kerne nicht nachweisen. Ich möchte daher auf diesen Fall kein besonderes Gewicht legen, halte aber eine gelegentliche Infektion der Käfer nicht für ausgeschlossen.

Der Infektionsweg stellt sich demnach folgendermaßen dar:

Die Larven infizieren sich durch Aufnahme der Gregarinencysten mit der Nahrung.

Die Sporozoiten wandern völlig in die Darmepithelzellen ein, wo sie sich vermehren können. Am Ende des Larvenstadiums verlassen die Gregarinen normalerweise als Cysten den Darm, so daß der Darm der Puppe von Parasiten frei ist.

Ich möchte noch über einige gelegentliche Beobachtungen berichten, die von Interesse sein dürften.

Es sind vor allem vereinzelt gefundene, eigentümliche Kernverhältnisse bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms zu erwähnen.

Das Auffinden von Kernen oder kernartigen Gebilden im Protomerit war bei den von mir beobachteten Formen relativ häufig. Die meisten Autoren erwähnen ja auch diese Eigentümlichkeit der Polycystideen.

Bei Sporonten, die der Form nach zu Berndt's *Gregarina steini* zu gehören scheinen, war zuweilen das Chromatin an dem einen oder an beiden Polen des länglichen Kernes angehäuft (Fig. 13, 14). In der Nähe solcher Kerne lag dann ein chromatinhaltiges Bläschen im Körper. Kernkörperchen wurden dabei nie gesehen, vielmehr schien das gleichmäßig helle Innere solcher Kerne ganz von Kernsaft erfüllt zu sein.

Auch geflammte Kerne, wie Wolters (13) sie für *Clepsidrina blattarum*, die *Klossia* der Schneckenniere und die *Monocystideen* des Regenwurmhodens beschreibt, fand ich mehrfach. Hier war die Kernmembran zerstört, und die Kernsubstanz ging mittels fein auslaufender Strahlen direkt in das Cytoplasma über (Fig. 15—18). Zuweilen ist ein Kernkörper in der Gestalt eines Bläschens vorhanden (Fig. 15). Öfters zeigen sich mehrere Nucleoli gehäuft (Fig. 16). Interessante Bilder zeigen die Figuren 17 und 18. Bei den dort

dargestellten Kernen teilte sich die kompakte Masse von Chromatin in 2 oder mehrere Stücke von eigenartiger Lagerung. Gleichzeitig traten bei Gregarinen mit geflammten Kernen zuweilen im Protomerit die gleichfalls von Wolters beschriebenen und abgebildeten „Plasmastrukturen von fadigem Aussehen“ auf. Dies ist besonders gut an Fig. 18 zu sehen. Endlich zeigte an diesen Gregarinen auch der vordere Teil des Deutomerits sehr bemerkenswerte Veränderungen. Das Plasma war an einer Stelle verdichtet, in deren Umkreis die sonst im Körper verteilten Körnchen fehlten. Von der stärker färbbaren Plasmaanhäufung wurde der Übergang in die übrige Leibessubstanz durch feine Strahlen und lockere Maschen hergestellt (Fig. 17b).

Wolters spricht die „geflammten Kerne“ als eine Vorbereitung auf die Teilung, vielleicht als „Kernspindeln, die von dem gewohnten Typus abweichen“, an. Diese Auffassung scheint mir besonders einleuchtend, da auch ich geflammte Kerne nur an Exemplaren in Copulationsstellung fand. Auch das Verhalten der Chromatinmassen dieser Kerne läßt sich als Vorbereitung auf Teilungsvorgänge deuten.

An den gewohnten Typus der Karyokynese erinnern sehr die Kerne der in Fig. 19 und 20 dargestellten Gregarinen. Bei mehreren recht großen Sporonten waren die Chromatinmassen an den Polen des Kernes, dessen Membran unverletzt war, in radial gerichteten Streifen angeordnet. Feine, aber deutlich markierte Linien verliefen von Pol zu Pol über den Kern. Daß diese Linien nicht gerade, sondern mehr oder weniger geschwungen erscheinen, ist vielleicht auf Torsionen zurückzuführen, die der Kern in diesem Zustand ausführt. Für Kerne an anderen Objekten erwähnt Prowazek (11) analoge Erscheinungen. Bei Gregarinen mit solchen Kernen fanden sich meistens in der Leibessubstanz kleine Chromatinansammlungen, die als Chromidien anzusprechen sind.

Wichtig scheint mir, daß das Auftreten von geflammten Kernen und dieser zuletzt beschriebenen Kernstadien in den Monaten Juli und August beobachtet wurde, einer Zeit, in der viele Larven kurz vor dem Eintritt in das Puppenstadium stehen, und in der die Cystenbildung der Gregarinen besonders häufig vor sich geht.

Vielleicht hängen derartige Kernumbildungen auch mit der geschlechtlichen Differenzierung der Sporonten zusammen, deren Vorhandensein nach den neueren Forschungen, besonders nach Léger's und Duboscq's Arbeiten für viele Gregarinen anzunehmen zu sein scheint.

Daß eine Kernteilung in Ausnahmefällen vielleicht pathologischer Natur tatsächlich eintreten kann, beweist die in Fig. 21 abgebildete Gregarine. Sechs Kernchen lagern an verschiedenen Körperstellen innerhalb heller Höfe. Das Bild dieser Gregarine hat eine gewisse Ähnlichkeit mit den Abbildungen, die Brasil (3) von den Sporulationsstadien der *Joyeuxella toxoides* und denen, die Nusbaum (10) von der *Schaudinella henleae* gibt.

In Fig. 22 bilde ich das Protomerit einer sehr großen Gregarine ab. Es handelt sich bei diesem druckknopfähnlichen Haftapparat durchaus nicht um Epimeritreste. Vielmehr gehört dies Protomerit einem bei der Präparation gewaltsam von seinem Primonten getrennten Satelliten an. Bei vielen, noch mit dem ersten Copulationsglied zusammenhängenden Tieren ließ sich ein gleicher Haftapparat weniger deutlich erkennen (Fig. 17, 18).

In Fig. 23a und b stelle ich Teile von quergeschnittenen Gregarinen dar, die die Struktur der Cuticula deutlich erkennen lassen. Die Stärke der in der Körperlängsrichtung verlaufenden Rippen und Furchen scheint recht verschieden zu sein.

Es fiel mir auf, daß die Mehlkäferlarven, die ich zu Untersuchungszwecken züchtete, häufig nach einiger Zeit fast frei von Parasiten waren, während die in den ersten Wochen untersuchten Tiere sämtlich sehr große Mengen von Gregarinen enthalten hatten. Diese mehrfach wiederholte Beobachtung legte den Gedanken nahe, daß entweder die Wirtstiere allmählich gegen die Parasiten immun werden, oder daß die Gregarinen zu ihrer Entwicklung eines Zwischenwirtes bedurften, der nicht in dem Mehl vorhanden war.

Da nun Ratten und Mäuse sich wohl am ehesten durch Fressen von Mehl, in dem sich mit Gregarinen behaftete Mehlwürmer aufhalten, infizieren können, stellte ich Fütterungsversuche mit einer Ratte und mehreren Mäusen an. Doch scheinen diese Tiere nicht als Zwischenwirte für die Gregarinen des Mehlwurmdarms in Betracht zu kommen. Es wurden während mehrerer Wochen täglich cystenhaltige Mehlwurmfäces an die Tiere verfüttert. Aber weder in ihren Exkrementen noch im Darm einer getöteten Maus ließen sich Gregarinen in irgendwelchen Stadien nachweisen.

Bei der Durchmusterung der Mehlwurmfäces nach Cysten fielen mir große Sphäroide und viele Kristalle von sehr wechselnder Gestalt auf. Neben kleinen Wetzsteinformen waren sechseckige, rhombische, rechteckige, durchschossene und solche mit einspringenden Ecken zu sehen. Sie stimmten in ihren mannigfachen Formen mit Harnsäurekristallen überein (Fig. 24). Auch die Anwendung der Murexid-

probe entschied für den Harnsäurecharakter dieser Kristalle. Ich dampfte auf dem Objektträger einen Ausstrich von kristallreichen Mehlwurmexkrementen mit Salpetersäure ein; nach dem Abkühlen färbte sich der Rückstand bei Behandlung mit Ammoniak purpurrot.

Die Sphäroide zeichnen sich vor den Stärkekörnern, die den Fäces der in Weizenkleie gehaltenen Tiere oft anhafteten, durch ihre Größe und stets kreisrunde Gestalt aus. Bei Zusatz von Jod färbten sie sich blau. Bei Behandlung mit Salzsäure zerfielen sie in Harnsäurekristalle. Wurde die Salzsäure in geringer Konzentration angewandt, so traten nach kurzer Zeit wieder Sphäroide auf, die sich mit Jod blau färbten.

Es scheint sich bei diesen Sphäroiden um eine Verbindung von Harnsäure und Stärke zu handeln. Künstlich diese Verbindung herzustellen gelang mir nicht. Ich kochte zu diesem Zweck Weizenstärke in einer Lösung von saurem harnsaurem Natron, der ich Salzsäure zusetzte. Da ich auch nicht die gewünschten Resultate erhielt, wenn ich die Substanzen kalt miteinander in Berührung brachte oder wenn ich die Lösung anfangs alkalisch machte, so nehme ich an, daß die Harnsäure-Stärkeverbindung schon innerhalb des Körpers, nicht erst in den ausgestoßenen Fäces entsteht.

Das Auftreten von Kristalleinschlüssen in den Darmzellen ist häufig beschrieben. Überraschend war dennoch die große Regelmäßigkeit, mit der sich auf einigen Darmschnitten fast in jeder Zelle kleine, dunkelgefärbte sechs- und viereckige Kristalle fanden (Fig. 25). Die Vermutung, daß diese Erscheinung auf eine Einwirkung des Hämatoxylins oder der Eisenalaunbeize zurückzuführen sei, erwies sich als hinfällig, da auch auf anders gefärbten Präparaten die Kristalle gleich zahlreich auftraten. Die Kristalle färbten sich durch Jod genau wie das Gewebe hell gelbbraun; also kann es sich nicht um Glykogen oder um Paraglykogen handeln. Die Prüfung auf Eiweiß mit dem Millon'schen Reagenz führte bei der geringen Menge der zu untersuchenden Substanz zu keinem Resultat. Ein Zusammenhang mit den in den Fäces auftretenden Kristallen scheint mir nicht ausgeschlossen; doch lieferte die Anwendung der Murexidprobe keinen Beweis dafür.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meiner sehr verehrten Lehrerin Dr. Maria Gräfin v. Linden meinen herzlichsten Dank auszusprechen für ihr gütiges Interesse, mit dem sie meine Untersuchungen geleitet und gefördert und sämtliche Beobachtungen nachgeprüft hat.



Literaturverzeichnis.

1) Anglas, J.: Sur l'histologie et l'histogénèse du tube digestif des Hyménoptères pendant la métamorphose. C. R. Soc. de Biol. Paris 1898.

2) Berndt, A.: Beitrag zur Kenntnis der im Darm von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. I, 1902.

3) Brasil, L.: Joyeuxella toxoides n. g. n. sp. Sporozoaire parasite de l'épithélium intestinal de Lagis Koreni Malmgren. Arch. de Zoologie expér. et génér. 3. Sér. T. X 1902.

4) Caullery, M. et Mesnil, F.: Sur une Grégarine coelomique présentant dans son cycle évolutif une phase de multiplication asporulée. C. R. Acad. Sci. Paris T. CXXVI 1898.

— —: Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des Grégarines. C. R. Soc. de Biol. LIII, 1901, Paris.

5) Cuénot, L.: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de biol. XVII 1901.

6) Henneguy, L. F.: Les Insectes. Paris 1904.

7) Léger, L.: Sur la morphologie des éléments sexuels chez les Grégarines Stylorhynchides. C. R. Acad. Sci. Paris 1901.

—: Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez le Stylorhynchus longicollis F. St. Arch. de Zoologie expér. et génér. T. X 1902.

8) Léger, L. et Duboscq, O.: Sur les prèmiers stades du développement de quelques Polycystidées. C. R. Acad. Sci. Paris 1901.

— —: Sur la régénération épithéliale dans l'intestin moyen de quelques arthropodes. Arch. de Zoologie expér. et génér. 3. Sér. T. X 1902.

— —: Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de parasitologie T. VI 1902.

— —: Nouvelles recherches sur les Grégarines. Arch. f. Protistenk. IV, 1904.

9) Lühe, M.: Bau und Entwicklung der Gregarinen. I. Arch. f. Protistenk. IV 1904.

10) Nusbaum, Józef: Über die geschlechtlich heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanal von Henlea leptodera Vejd. schmarotzenden Gregarine. Zeitschrift f. wiss. Zool. Bd. 75 1903.

11) Prowazek, S.: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. I, 1902.

12) Siedlecki, M.: Note sur les rapports des Grégarines avec l'épithélium intestinal. C. R. Soc. de Biol. 1901.

—: Contributions à l'étude des changements cellulaires provoqués par les Grégarines. Arch. d'anat. microsc. IV, 1901.

13) Wolters, K.: Die Conjugation und Sporenbildung bei den Gregarinen. Arch. f. mikr. Anat. XXXVII, 1890.

Tafelerklärung.

Tafel III.

Die Zeichnungen sind sämtlich mit Hilfe des ABBÉ'schen Zeichenapparates von ZEISS hergestellt. Es wurde ein Mikroskop von Winkel (Göttingen) benutzt. Für die Figuren 17 u. 18 diente Ocular 1 und die Objektivlinse von 3 mm Brennweite. — Vergrößerung 290; für alle übrigen Figuren wurde die Linse für homogene Immersion (1,4 mm Brennweite) mit dem Ocular 1 — 620fache Vergrößerung, oder Ocular 4 — 1200fache Vergrößerung, angewandt. Die Dicke der Schnitte beträgt 5 μ. Fig. 2 und Fig. 24 ausgenommen sind sämtliche Abbildungen nach Präparaten hergestellt, die nach der Methode von HEIDENHAIN in Hämatoxylin-Eisenalaun gefärbt worden sind.

Fig. 1. a) Hypertrophierte Darmepithelzelle, eine Gregarine umschließend; b) normale Epithelzelle auf demselben Schnitt. Immers. Oc. 4.

Fig. 2. Ein Stück Darmepithel, zwischen dessen normalen Zellen eine mit einer Gregarine (8,75 μ) besetzte hypertrophierte liegt. Immers. Oc. 4. Thionin-Färbung.

Fig. 3. Kleiner Cephalont (9,25 μ), dessen Epimerit in eine Darmepithelzelle eingesenkt ist. Bordeaux-Nachfärbung. Immers. Oc. 4.

Fig. 4. Zweikernige intracelluläre Gregarine. Immers. Oc. 4.

Fig. 5. Vierkernige intracelluläre Gregarine; daneben eine Epithelzelle, deren Parasit nur zum Teil getroffen ist. Immers. Oc. 4.

Fig. 6. Zelle mit zwei Gregarinen; Kern der einen nicht im Schnitt liegend. Immers. Oc. 4.

Fig. 7. Zelle mit drei Parasiten; Kern des einen nicht getroffen. Immers. Oc. 4.

Fig. 8. Ein Stück Epithel eines stark infizierten Darms. Immers. Oc. 1.

Fig. 9. Zelle mit zwei Parasiten: Kern des kleineren vielleicht in mitotischer Teilung begriffen. Immers. Oc. 4.

Fig. 10. Intracelluläre Gregarine, schon in Protomerit und Deutomerit gegliedert. Bordeaux-Nachfärbung. Immers. Oc. 4.

Fig. 11. Gruppe amöbenartiger, auf Ausstrichpräparaten beobachteter Körperchen. Immers. Oc. 1.

Fig. 12. Wahrscheinlich ein eigentümliches Gregarinenstadium. Ausstrichpräparat. Immers. Oc. 1.

Fig. 13 u. 14. Gregarinen mit eigenartigen Kernen und chromatinhaltigen Bläschen im Körper. Ausstrichpräparat. Immers. Oc. 1.

Fig. 15 u. 16. „Geflammte Kerne" von großen, quergeschnittenen Gregarinen. Bei Fig. 15 Kernkörper in Gestalt eines Bläschens, bei Fig. 16 Kernkörper in Gestalt eines Bläschens und gehäufter Nucleoli. Immers. Oc. 4.

Fig. 17 u. 18. Gregarinen in Copulationsstellung mit geflammten Kernen und strahligen Plasmastrukturen. Oc. 1. Obj. 3 mm.

Fig. 17b. Teil des Satelliten in Fig. 17a. Immers. Oc. 4.

Fig. 18a', b', c'. Die zu Fig. 18a, b, c gehörenden Kerne. Immers. Oc. 4. Bordeaux-Nachfärbung. Ausstrichpräparate.

Fig. 19 u. 20. Gregarinen, deren Kerne mitotischen Kernteilungsfiguren sehr ähneln. Bei Fig. 20 Chromatinanhäufungen (Chromidien?) im Körper der Gregarine. Immers. Oc. 1. Ausstrich.

Fig. 21. Wahrscheinlich pathologisch veränderte Gregarine, die sechs Kernchen innerhalb heller Höfe enthält. Immers. Oc. 4.

Fig. 22. Protomerit eines großen Satelliten mit Haftapparat und deutlicher Längsstreifung des Körpers. Immers. Oc. 1.

Fig. 23. Cuticula. Strukturen zweier quergeschnittener Gregarinen. a) Immers. Oc. 1; b) Immers. Oc. 4.

Fig. 24. Harnsäurekristalle und Sphäroide von Harnsäurestärke aus Mehlwurmfäces. Ungefärbt. Immers. Oc. 1.

Fig. 25. Darmepithelzellen mit 4- und 6eckigen Kristallen innerhalb und außerhalb der Zellkerne.

(Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Gaffky.)

Das Vorkommen von Autogamie bei *Trypanosoma Lewisi.*

Von

Prof. Dr. **Claus Schilling.**

(Hierzu 11 Textfiguren.)

Das *Trypanosoma Lewisi* Kent besitzt in bezug auf seine Teilung eine Eigentümlichkeit, welche bei den übrigen pathogenen Trypanosomen nicht bekannt ist. *Tryp. Lewisi* teilt sich gewöhnlich nicht durch Längsteilung in zwei gleichgroße Individuen, wie dies z. B. bei *Tryp. Brucei* der Fall ist, sondern die Teilungsprodukte sind meist viel kleiner als das Muttertier. Die Teilung geht so vor sich, daß Hauptkern und Blepharoblast sich teilen, aus dem neuen Blepharoblasten wächst eine neue Geißel heraus; das um diese Kernteile herumliegende Protoplasma schnürt sich vom Muttertiere ab und das kleine Tochterindividuum, welches zuerst birnförmig ist, wächst zum Trypanosoma heran. Dieser Vorgang ist aus den Untersuchungen von Rabinowitsch und Kempner, Wasielewski und Senn, und Laveran und Mesnil im allgemeinen bekannt.

Der Grund, warum ich nun diesen Entwicklungskreis neuerdings aufnahm, lag vor allem in dem eigentümlichen Verhalten der beiden Kerne zueinander. Wie Fig. I in schematischer Darstellung erkennen läßt, rückt der Blepharoblast allmählich auf den Hauptkern zu. Diese Annäherung kann nicht allein durch die Dickenzunahme des Parasiten bedingt sein, wie ein Blick auf die Figur

ohne weiteres zeigt, sondern es war von vornherein wahrscheinlich, daß damit Wechselbeziehungen zwischen Hauptkern und Blepharoblast eingeleitet werden. Stadien, wie sie die Abbildung Fig. III, 1 zeigt, sind sehr selten zu sehen; häufig dagegen sieht man Stadien, die dem Bilde I, 4 entsprechen.

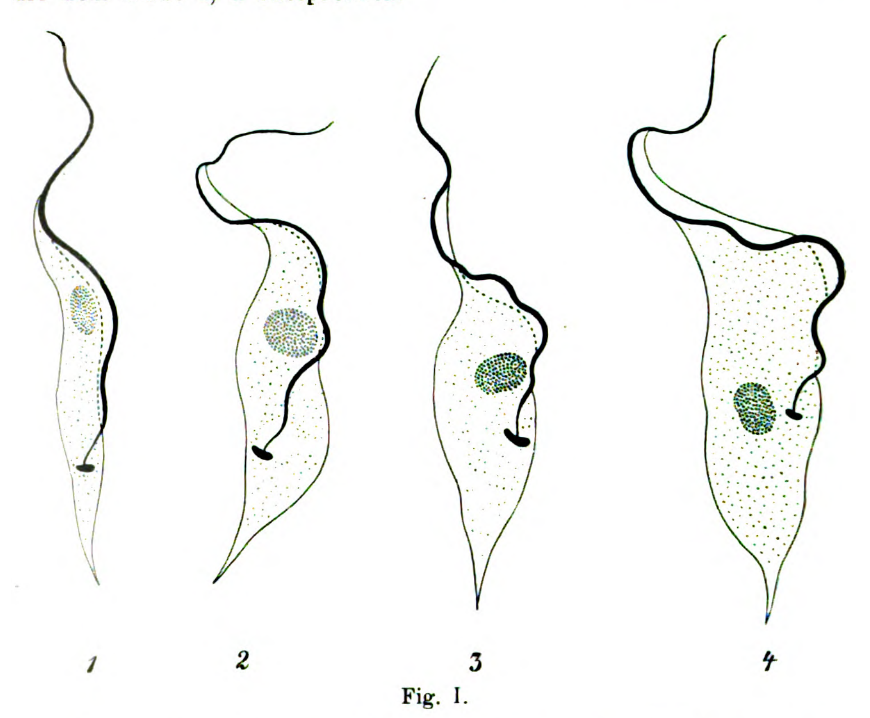


Fig. I.

Das nach der gewöhnlichen Trockenmethode angefertigte Ausstrichpräparat gibt nun nicht genau die Lage der beiden Kerne zueinander, sondern gewissermaßen die Projektion auf die Bildebene wieder. Lag der Blepharoblast beim lebenden Tiere über dem Hauptkerne, so kann er durch das Antrocknen in den Kern hineingedrückt werden. Dazu kommt, daß bei der Trockenmethode und anschließender Romanowsky- oder Methylenblau-Eosin-Färbung Dinge in den Kernen und Kernderivaten gefärbt werden, die der Wirklichkeit nicht exakt entsprechen. Die sog. Chromatinkörner lassen sich nur mit dieser Methode nachweisen. Bei guter Färbung ist die Geißel stets viel dicker als sie am lebenden Objekt erscheint. Diese Methode gibt uns also nur Übersichtsbilder; für das Studium feinerer Strukturen im Kern und seinen Derivaten ist sie nicht geeignet.

Die HEIDENHAIN'sche Methode, die neuerdings von BREINL und nach ihm von ROSENBUSCH modifiziert wurde, gibt sehr klare Bilder. Der Hauptkern stellt bei dieser Methode ein Bläschen dar, das bei guter Färbung durch eine scharf gezogene Membran vom Plasma getrennt ist. Im Centrum, manchmal auch deutlich excentrisch, liegt das kompakte Caryosom. Ein Centriol war nie zu sehen. Der Blepharoblast ist ein tief dunkel gefärbtes Stäbchen; eine so scharf umgrenzte achromatische Zone um den Blepharoblasten, wie sie ROSENBUSCH abbildet, trat in meinen Präparaten niemals hervor; höchstens war ein etwas hellerer Saum zu sehen.

In einem Stadium, etwa entsprechend Fig. II, 4 schwillt das Caryosom des Hauptkernes beträchtlich an. Die Teilung vollzieht sich dann offenbar sehr schnell, wie überhaupt alle diese Vorgänge

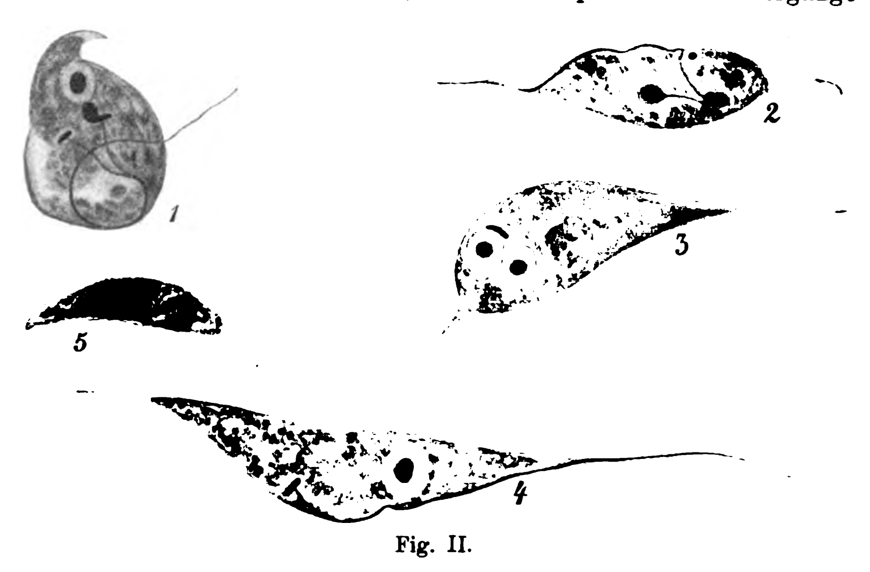


Fig. II.

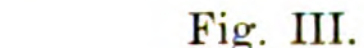
in ganz kurzen Zeitabschnitten verlaufen. Wie bereits alle früheren Autoren erwähnen, ist kein regelmäßiges zeitliches Verhältnis zwischen Hauptkern- und Blepharoblastteilung zu konstatieren: man findet sowohl Exemplare mit 2 Hauptkernen und 1 Blepharoblasten, als auch solche mit 1 Hauptkern und 2 Blepharoblasten. Dieser letztgenannte ist außerordentlich selten in Teilung zu sehen. Eine Spindelfigur mit Äquatorialplatte, wie sie ROSENBUSCH Taf. II, Nr. 34 abbildet, habe ich nicht gesehen. Ob die Fig. II, 5 als letztes Stadium einer primitiven Mitose oder einer Amitose zu deuten ist, kann ich nicht entscheiden, da die vorausgehenden Stadien mir fehlen.

In Zellen, die 2 Hauptkerne und 2 Blepharoblasten enthalten, sieht man nun häufig, daß entweder einer der beiden Blepharoblaste — und zwar ist es in der Regel zuerst der mit der alten Geißel in Verbindung stehende Kern, — manchmal auch beide neugebildete Blepharoblaste an einen bzw. beide Hauptkerne herantreten. In ROMANOWSKY-Präparaten gewinnt man häufig den Eindruck, als senke sich der Blepharoblast in den Haufen von Chromatinbröckelchen, der den Hauptkern bildet, hinein. Sobald die Teilung des Blepharoblasts eingetreten ist, entwickelt sich auch schon aus dem neuen Tochterblepharoblast der zweite Randfaden.

An Eisenhämotoxylinpräparaten tritt dieser Prozeß viel schärfer hervor. Nur entsteht hier die Schwierigkeit, daß infolge der feuchten Fixierung der Körper des Trypanosoma seine Gestalt behält und nicht, wie beim Trockenpräparat, in eine Ebene zusammengesunken ist. Fast immer sind die beiden Geißelwurzeln derart zu den Hauptkernen orientiert, daß sie quer zur Längsachse des Körpers liegen, d. h. daß eine Verbindungslinie zwischen ihnen etwa senkrecht zur Hauptachse stehen würde. Es tritt deshalb in den Präparaten sehr häufig der Fall ein, daß ein Blepharoblast auf bzw. unter einem Hauptkerne liegt. Doch finden sich auch Bilder, wo Hauptkern und Blepharoblast annähernd in einer Ebene parallel zur Fläche des Objektträgers gelagert sind. An diesen erkennt man nun (Fig. II, 1 und 2, Fig. III, 1), daß der Blepharoblast




1 Fig. III. 2



sich in der Tat in das Kernbläschen einsenkt und sich dicht an das Caryosom anlegt. Zu einer Verschmelzung beider kommt es nicht, sondern der Blepharoblast ist stets deutlich zu erkennen. Es handelt

sich also um eine nur vorübergehende Vereinigung beider Kerne, die man am besten als Kern-Konjugation bezeichnen würde.

Diese Konjugation je zweier Kerne ist in einem und demselben Trypanosoma gewöhnlich nur bei einem der beiden Kernpaare zu sehen, während das andere Paar noch mehr weniger weit auseinander steht.[1] Bald ist es der mit der alten Geißel in Verbindung stehende (Ba), bald der neugebildete Blepharoblast (Bb), der in dem einen der Hauptkerne liegt. Irgendeinen Unterschied im Aussehen der Hauptkerne konnte ich nicht erkennen.

Dieser Vorgang muß, ebenso wie die Kernteilung, offenbar sehr schnell ablaufen, denn er ist entschieden selten zu sehen.

Der in den Hauptkern eingedrungene Blepharoblast rückt auch sofort wieder aus ihm heraus und wird später manchmal in ziemlich beträchtlicher Entfernung von ihm gefunden; meist bleibt er allerdings ganz in der Nähe des zugehörigen Hauptkernes liegen. Der neugebildete Blepharoblast treibt nun eine neue Geißel hervor, und zwar stets auf dem kürzesten Wege nach der Oberfläche des Trypanosoma hin. Daher kommt es, daß, wenn nun das Plasma in der Nähe des neuen Kernpaares sich abzuschnüren beginnt, der Blepharoblast stets geißelwärts vom Hauptkerne liegt. Es entstehen dann die bekannten *Crithidia*-ähnlichen kleinen Gebilde.

Noch innerhalb des Mutterorganismus können sich nun weitere Teilungen in 4, 8 und mehr Kerne bzw. Blepharoblasten anschließen. Ob sich die eben geschilderte Konjugation von Hauptkern und Blepharoblast in diesen Stadien noch wiederholt, ist mit Bestimmtheit nicht zu sagen, denn das Gewirre der Kerne ist ein so großes und die Hauptkerne werden durch die Teilungen den Blepharoblasten so ähnlich, daß eine genaue Orientierung nicht mehr möglich ist. Doch habe ich häufig Bilder gesehen, die eine Wiederholung dieses Vorganges sehr wahrscheinlich erscheinen lassen (Fig. III, 2).

Ich deute die Vorgänge in folgender Weise:

Die erste Teilung beider Kerne stellt eine Reduktionsteilung dar. In der Tat wird ja die Substanz der Kerne auf die Hälfte verkleinert. Und nun folgt eine innige Berührung je eines Hauptkernes und eines Blepharoblasten, nicht in der Weise, daß sich etwa der Blepharoblast im Hauptkern auflöst, sondern derart, daß jeder der beiden Kerne seine Individualität beibehält. Das Wesentliche

[1]) Es sei mit A der Hauptkern, mit B der Blepharoblast bezeichnet, mit Aa und Ab die beiden Teilungsprodukte des Hauptkernes, mit Ba und Bb die des Blepharoblasten.



des Vorganges muß also in dem Austausch gewisser Substanzen bestehen, die wir aber mikrochemisch noch nicht nachweisen können, ohne daß jedoch der Blepharoblast mit dem Caryosom verschmölze.

Daran schließt sich nun eine sehr lebhafte Vermehrung aller Kernbestandteile an, die so rasch verläuft, daß die Zellteilung nicht gleichen Schritt damit zu halten vermag und die bekannten „multiplen" Teilungsformen entstehen.

Beachtenswert sind bei dem eben beschriebenen Vorgang folgende Punkte:

1. Die der Kernkonjugation vorausgehende Reduktion endet nicht, wie gewöhnlich, mit dem Zugrundegehen des einen bzw. der zwei Reduktionskerne, sondern beide Kernhälften bleiben vollkommen erhalten und nehmen an den daran anschließenden Paarungsvorgängen teil.

Das Wesen der Reduktion besteht in der Verminderung des Kernmaterials auf die Hälfte; sind Chromosomen vorhanden, so ist diese Verminderung in der Halbierung der Chromosomenzahl ausgedrückt. In unserem Falle ist diese Teilung des Kernmaterials durch die einmalige Zweiteilung erreicht.

In einer Zusammenstellung der verschiedenen Formen der Autogamie erwähnt Hartmann die Vorgänge bei *Polytoma uvella*: er nimmt an, daß bei diesen Phytoflagellaten, bei welchen bisher eine Reduktion vor der Gametogonie nicht beobachtet worden ist (Dangeard, von Prowazek) in der Vierteilung bei der Gametenbildung auch die Reduktionsteilung liege. Auch bei *Entamoeba tetragena* ist es Hartmann nicht gelungen, die vor der Verschmelzung der Gametenkerne eigentlich theoretisch zu fordernde Reduktion nachzuweisen. Auch in dem Falle von *Sphaeractinomyxon stolci* ist die Reduktion der Gametenkerne nicht beobachtet, Hartmann nimmt hier wie bei *Polystomella* und bei Radiolarien die oben gegebene Deutung der letzten Teilung als Reduktion zu Hilfe. Diese Auffassung, daß die Reifung der Kerne nicht unbedingt mit dem Verlust des in den Reduktionskernen enthaltenen Materials verknüpft sein muß, leuchtet sehr ein. Findet, wie in unserem Falle, jeder reduzierte Kern sofort innerhalb desselben Individuums einen gleichfalls reduzierten Blepharoblasten vor, so wird die Kernkonjugation eintreten können. Der Gedanke liegt nahe, daß wir in der Reduktion, wie sie im vorliegenden Falle sich abspielt, die primäre Form zu erblicken haben, die in anderen Fällen, wo nur ein Kern in jedem Gameten existiert, mit der Auflösung der nicht sofort zur Copulation gelangenden Reduktionskerne endigt. Hartmann läßt

die Frage, ob die Autogamie der primäre, die Amphimixis der sekundäre Copulationsmodus sei, für einige Fälle offen. Vielleicht dient die oben ausgeführte Auffassung von der Reduktion der Kerne dazu, die primäre Natur der autogamen Befruchtung darzutun.

2. Der Blepharoblast senkt sich nur in den Hauptkern ein und verläßt ihn, scheinbar nicht verändert, wieder.

Für diesen Vorgang fehlt vorläufig ein analoger Fall. Bei *Haemoproteus noctuae* rücken zwar die beiden reduzierten Blepharoblaste in den Hauptkern hinein, der, soweit man dies aus SCHAUDINN's Figuren in seiner Trypanosomen-Arbeit erkennen kann, kein Caryosom mehr enthält, aber sie bleiben dann nach ihrer Verschmelzung im Hauptkern als Caryosom liegen und beteiligen sich als solches an der Entwicklung des Geißelapparates. Es fehlt also in diesem Falle die Möglichkeit der Konjugation zwischen Caryosom des Hauptkernes und Blepharoblasten.

Es sei aber doch darauf hingewiesen, daß bei Coccidien (z. B. *Eimeria Schubergi*) die Befruchtung nicht zur sofortigen völligen Verschmelzung der beiden Kerne, sondern erst zur Ausbildung einer Befruchtungsspindel, die etwa 24 Stunden bestehen bleibt, führt, und daß bei Infusorien die mütterlichen und väterlichen Komponenten des Syncarion manchmal noch einige Zeitlang deutlich unterschieden werden können.

Eine Erklärung, warum die beiden mikrochemisch nahe verwandten Elemente, Caryosom und Blepharoblast, nicht miteinander verschmelzen, kann man natürlich nicht geben.

3. In dem Umstande, daß Blepharoblast und Hauptkern sich miteinander vereinigen, kommt ein sexueller Dualismus zum Ausdruck. Diese Differenz zwischen dem überwiegend männlichen Charakter des Blepharoblasten und dem mehr weiblichen des Hauptkernes ist schon von SCHAUDINN dargestellt und erklärt worden. Diese Form der Kernconjugation ist also eine neue Bestätigung seiner Auffassung.

4. Auf diesen Vorgang folgt eine lebhafte Teilungsperiode. Es schließt sich in diesem Falle also die Vermehrung der Individuen unmittelbar an die Conjugation der Kerne an. Dadurch unterscheidet sich diese Art der Vermehrung wesentlich von der im chronischen Stadium der Infektion zwar vorkommenden, aber sehr selten im peripheren Blute beobachteten Längsteilung nach dem Schema, das wir bei den übrigen pathogenen Säugetiertrypanosomen zu finden gewohnt sind. Die gleiche Beobachtung haben MOORE, BREINL und HINDLE gemacht. Die Unterschiede bestehen in dem Lageverhältnis von Kern und Blepharoblast, in der Wachstums-

richtung der neuen Geißel, die ganz unabhängig von der alten Geißel der Körperoberfläche zustrebt; in der Schnelligkeit der aufeinanderfolgenden Teilungen, in dem Zurückbleiben der Plasmateilung hinter den Kernteilungen und in der Regellosigkeit des Verlaufes der Teilungsebene. So entstehen sehr kleine *Crithidia*-ähnliche Produkte, die sich erst durch eine Wanderung des Blepharoblasten in der Längsrichtung des Körpers, vorbei am Kern, in kleine Trypanosomenformen umwandeln. Auch auf Grund dieses Teilungsmodus nimmt das *Trypanosoma Lewisi* eine Sonderstellung unter den Wirbeltiertrypanosomen ein.

Die Kette der schon lange bekannten, aber bei den im Blute von Wirbeltieren schmarotzenden Trypanosomen bisher isoliert dastehenden Tatsachen — das Zusammenrücken der beiden Kerne einerseits, die eigentümliche „multiple" Teilung andererseits — wird durch die hier geschilderte Kernkonjugation geschlossen.

Es liegt nun der Gedanke sehr nahe, diese Kernconjugation als Autogamie zu bezeichnen. Dagegen wendet Hartmann (dieses Archiv, Bd. XIV Heft 2) ein, daß Hauptkern und Blepharoplast zwei physiologisch differenzierte Kerne einer einwertigen Zelle darstellen; daß also hier nur eine Entdifferenzierung vorliegen könne. Da auf Grund einer isolierten Beobachtung, wie der vorliegenden, eine solche Frage nicht gelöst werden kann, so möchte ich mich vorläufig nach keiner Richtung hin entscheiden, hielt aber die Beobachtung für wert der Bekanntgabe.

Über den Kern und seine Teilung bei Sarcinen und *Micrococcus ochraceus*[1] *(butyricus).*

Von
Em. Mencl, Prag.

(Hierzu Tafel IV.)

Wenn wir von zweierlei Erscheinungen in der Literatur, welche die Kernfrage der Schizomyceten behandelt, absehen, nämlich von denjenigen Stimmen, welche in dogmatisierender Weise das Vorhandensein der Kerne oder der Äquivalente derselben leugnen, indem sie die hierher gehörenden Bestandteile mit leeren Worten (Volutin usw.) abfertigen — oder zweitens diejenigen Autoren, die ganz willkürlich und im Verhältnis zu der außergewöhnlichen Wichtigkeit der Sache sozusagen leichtsinnig die eindeutigen, klaren Bilder ganz unnatürlich interpretieren („Scheidewändebildung" usw.) — so kann man im allgemeinen einen erfreulichen Moment in der genannten Frage erwähnen, nämlich, daß ähnliche, obzwar nicht immer dieselben Strukturen, bei verschiedenartigsten Gattungen und unter verschiedenen Lebensbedingungen der betreffenden Bacterien oder Bacillenarten von verschiedenen Autoren vorgefunden worden sind. Ich meine hier z. B. die ganz klare, obzwar etwas abweichend interpretierte ältere Abbildung von Künstler und Chaine (Notice

---

[1]) Im folgenden benütze ich einmal den Terminus *M. butyricus* und gleich darauf *M. ochraceus*. Bei der Diagnose auf *M. butyricus* stimmt die Angabe nicht, er trübe bloß gering den Bouillon. Die Trübung war stark. Sonst paßt die Diagnose für *M. ochraceus* für unseren Organismus vollkommen (Matzuschita). Es werden aber beide Arten identifiziert.

sur le cryptococcus, Arch. d'anatomie microscopique, Tome VI Fasc. 1 1903), welche darauf hinweist, daß diese Autoren einen typischen Kern in ihrem Microorganismus haben sehen müssen. Außerdem haben wir noch andere Angaben über die Existenz des Kernes bei Bacterien von Kunstler. Uns interessiert diesmal nicht wenig auch der Umstand, daß die beiden soeben genannten französischen Autoren auch für ein *Spirillum* einen typischen Kern festzustellen imstande gewesen sind (*Spirillum periplaneticum*). Jedoch auch schon früher finden wir eine Reihe von Arbeiten, die sich für die Kernhaltigkeit der Bacterien oder mindestens Chromatinhaltigkeit derselben aussprechen; ich nenne hier nur Mitrophanow, Sjöbring, Nakanishi, Ziemann usw. Verdoppelte Kerne findet in seinem *Bacterium binucleatum* Swellengrebel, obzwar dieser Autor bedauerlicherweise in der letzten Zeit die Mehrzahl der Kernbefunde bei den Bacterien leugnet, sich der falschen Erklärungsweise dieser Befunde, als handle es sich um eine Bildung von Querwänden (Guilliermond), zuneigt, obzwar er, was ich für richtig (aber gleichzeitig auch wenig konsequent seitens Swellengrebel) halte, für sein *Bacterium binucleatum* und „deswegen“ auch für gewisse meine Bacterien die soeben angeführte gezwungene Erklärung nicht zuläßt. Ich werde hoffentlich in einer anderen Abhandlung bessere Gelegenheit dazu finden, von neuem auf diese Sachen zurückzukommen. Trotz allen noch so verschiedenartigen Einwänden kann gesagt werden, daß das Vorkommen von typischen Kernen heute eine festgestellte, unerschütterliche Tatsache ist, mindestens für eine Reihe von Bacterien und für gewisse Entwicklungsstadien derselben. –

Wir besitzen jedoch außer denjenigen Fällen, wo man das Chromatin in der Form von kleinen Körnchen in der ganzen Bacterienzelle zerstreut vorgefunden hat, oder wo man wieder den typischen Zellkernen begegnet, noch eine dritte Gruppe von Befunden, die ebenfalls unleugbar sind, die aber durch ihre Eigentümlichkeit in der Anordnung des Chromatins in der Bacterienzelle einen neuen Bautypus der Bacterien bilden müßten. Ich meine hier die allerklarsten Befunde von Chromatinspiralen in den verschiedenen Bazillen und Bacterien, wie wir sie von verschiedenen Autoren, wie schon von Schaudinn (*Bacillus bütschlii* natürlich nur in gewissen Stadien) besitzen, weiter von Swellengrebel (*Spirillum giganteum*, *Spirochaeta balbianii*, *Bacillus maximus buccalis*, *Bacterium binucleatum* — hier außer den Stadien mit typischen Kernen — und auch bei *Sphaerotilus natans*) und endlich in einer äußerst schönen und scharfen Weise bei Dobell (*Bacillus spirogyra* und *Bacillus flexilis*) usw. Neuerdings

finden wir recht interessante weitere Tatsachen zu dieser Frage ebenfalls bei DOBELL (On the so-called „sexual“ method of spore-formation in the disporic Bacteria. Q. Journ. Micr. Soc. 53. 3. 1909) — in diesem Falle lauter Verhältnisse, die meinen älteren Befunden bei den Fadenbacterien des Prager Leitungswassers ganz ähnlich gleichen, und somit auch gewissen neuen von mir in der letzten Zeit beobachteten Strukturen, welchen ich jedoch in einer anderen Abhandlung diè gebührende Aufmerksamkeit zu widmen beabsichtige. Es sei schon hier bemerkt, daß es sich auch hier nicht um Type, sondern Stadien der Entwicklung handelt.

Den erwähnten Beobachtungen zufolge braucht also das Chromatin nicht immer in einer und derselben Anordnungsweise in den Bacterien vorzukommen — es herrscht vielmehr in dieser Beziehung eine ziemlich große Variabilität vor. Wenn wir diese Verhältnisse gut erwägen und mit gewissen in der neuesten Zeit bei den Kernen der Propagationszellen gewonnenen Resultaten vergleichen, so dürfen wir uns nicht wundern, wenn wir in manchen Fällen sogar fast „leeren“ oder in mittels spezifischer Färbemittel behandelten Präparaten anstatt der drei erwähnten Strukturtypen ganz diffuse gefärbten Bacterienzellen begegnen. Die zwei letzterwähnten Fälle, wenn dieselben nicht durch schlechte Methodik überhaupt verursacht werden, sind also nur auf die Eigenschaften der Zelle in gewissen Entwicklungsstadien überzuführen.

Unsere Kenntnisse vom Bau der Bacterienzelle sind heute ziemlich weit fortgeschritten, obzwar sich bisher leider kein Bakteriologe oder Botaniker vom Berufe gefunden hat, der diese schwere aber hochwichtige Frage auf Grund exakter Methoden, mit gründlichen cytologischen Kenntnissen und reichen Erfahrungen ausgerüstet, mit echter wissenschaftlicher edler Skepsis und nicht, wie es bisher geschieht, anstatt einer solchen mit stumpfem Dogmatismus ans Werk schreitend, zu lösen versucht hätte. Ich hoffe zuversichtlich, daß wir nicht mehr allzu weit von dem Augenblicke entfernt sind, wann es klar werden wird, daß die verschiedenartigsten Angaben, insofern dieselben einer ernsten und gewissenhaften wissenschaftlichen Arbeit entspringen,[1]) alle in reinen Einklang gebracht werden,

[1]) Es ist bei der eminenten Wichtigkeit und außerordentlichen Schwierigkeit unserer Frage doppelt zu bedauern, daß sich in die einschlägige Literatur Elaborate eingeschlichen haben, welche das Gepräge von Unzulänglichkeit des Autors, eines gähnenden Mangels an technischen und sogar allgemeinen sachlichen Kenntnissen Zeugnis abgeben, und — was das Schlimmste dabei — überhaupt nicht dem edlen wissenschaftlichen Streben entsprossen sind (wie z. B. neuerdings AMBROŽ).

so daß ein neues schönes Gebäude, das der Bacteriencytologie, in der allerfeinsten der Wissenschaften hoch emporragen wird. Diesem Ideale sind wir seit der Zeit viel näher gerückt, als man die Variabilität, die fast ins Unendliche geht, bei den Bacterien erkannt hatte, und als man sogar zur Überzeugung kommen mußte, daß die Bacterien einen komplizierten Entwicklungscyclus besitzen müssen. Ich kann nicht umhin, als von neuem an auf die von mir schon öfters citierte große Arbeit von Billet in dem Giard'schen Bulletin scientifique de la France et de la Belgique (Tome XXI, Série 3 Vol. 3 1890) hinzuweisen, wo eine Reihe von äußerst verschiedenen, jedoch ineinander hineingreifenden Stadien von *Cladothrix dichotoma* beschrieben und abgebildet wurde. Die Stadien sind bei Billet die folgenden: État filamenteux (filaments monocladés, bicladés, polycladés), état dissocié (élément rectiligne, bactérium, spirillum, streptospirillum, vibrio), état zoogléique (zooglée terminale, intercalaire) état enchevêtré, formation et germination des spores endogènes. Ähnliches gilt auch für das *Bacterium osteophilum*, *Bacterium balbianii*, und in beschränkter Ausdehnung auch für *Bacterium parasiticum*.

Die Entdeckungen von Billet, sowie meine eigenen in dieser Richtung unternommenen, jedoch nicht abgeschlossenen Untersuchungen über die Bacterien der Prager Wasserleitung, und in nicht geringem Maße auch anderweitige moderne fremde Beobachtungen brachten mich zur Überzeugung, daß die Erscheinung, wenn einmal typische Kerne, andere Male Spiralen usw. in den Bacterien vorzukommen pflegen, dies keineswegs einen Zufall oder eine spezifische Eigenschaft, dieser oder jener Bacterienart eigen, bedeutet, sondern daß es für gewisse physiologische und entwicklungsgeschichtliche Stadien entsprechende charakteristische Anordnung des Chromatins gibt, daß also eine und dieselbe Bacterienart in einem Stadium einen typischen Zellkern, in einem anderen eine Chromatinspirale usw. besitzt und daß alle diese Stadien in cyclischer Reihenfolge immer zurückkehren. Ob dies für alle Bacterienarten zutreffend ist, will ich nicht entscheiden — es ist aber klar, daß der Anfang der ganzen Beweisführung so zu denken ist, daß man eine entsprechend große, starker Umhüllungen und Scheiden entbehrende Bacterienart in ihren intimsten Strukturen vermittels einer intramortalen (vitalen) Färbung auf einem und demselben Nährboden bis zur Sporenbildung verfolgen muß, um dann wieder von der Spore anzufangen. Auf ähnliche Weise ist es mir gelungen, unlängst einen näheren Einblick in einen Teil des Entwicklungskreises von *Azotobakter chroococcum* zu

gewinnen, was ich mir jedoch für eine kleine separate Mitteilung reserviere.

Alles in allem genommen besitzen wir heute gewisse Kenntnisse über die Bacterienformen, Bacillenformen, einige Spirillen usw. Fast ganz vernachlässigt wurden aber die Micrococcen der Kleinheit wegen und dann auch aus dem Grunde, da diese Form sehr oft derbe Hüllen besitzt, welche eine distinkte Färbung nur schwer oder überhaupt nicht zulassen. Ich sage nur Formen, da die bisherige, aller wissenschaftlichen Grundsätze entbehrende sogenannte „systematische“ Einteilung der Schizomyceten unhaltbar ist und durch die Feststellung der Variabilität der Bacterien ganz unmöglich gemacht wurde.

Ich befinde mich in der glücklichen Lage, an dieser Stelle einige wirklich überraschende Aufschlüsse von dem Bau und Vermehrung von Micrococcen zu geben, von Strukturverhältnissen, die ganz eindeutig sind und die jeder Unbefangene ganz übereinstimmend mit mir beurteilen muß, wenn er die Sache nicht äußerst gezwungen erklären will.

Die vorliegenden Mitteilungen sind eine Frucht von langer ängstlicher und gewissenhaftester Arbeit, welche ich im Frühjahr und Sommer 1909 in dem chemisch-bakteriologischen Privatlaboratorium meines langjährigen opferwilligen Freundes, Herrn Chem.-Ingenieur Fr. Kundrát in Pilsen unternommen habe. Ich erfülle meine größte und tiefempfundene Pflicht, indem ich an dieser Stelle dem genannten Herrn meinen wärmsten Dank ausspreche, denn man begegnet nur selten einem Manne, welcher, obzwar von eigenen Arbeiten und Pflichten überbürdet, jahrelang seine Zeit, sein Laboratorium, seine Instrumente, Gefäße, Nährboden, Reagentien usw. in solcher Fülle und unbeschränkt für fremde Arbeit widmet, wie dies mir seitens des Genannten zuteil wurde. Es ist dies nur durch edelste Freundschaft und gediegenste Wissenschaftsliebe erklärlich.

Das Ausgangsmaterial, und zwar eine Kartoffelkultur von *Micrococcus butyricus*, sowie Agarkulturen von *Sarcina rosea* und *lutea* habe ich der Freundlichkeit des Herrn A. Rosam, Direktor der Ackerbau- und Molkereischule in Pilsen, zu verdanken. Ich danke diesem Herrn verbindlichst auch für die Bewilligung zur unbeschränkten Benutzung seiner Laboratorien und deren wissenschaftlicher Ausstattung.

Was das **Material,** welches zu den vorliegenden Studien benutzt wurde, anbelangt, so sei nur bemerkt, daß ich den *Micrococcus ochraceus* ursprünglich nur in Wassersuspensionen des *Micrococcus*, von einer Kartoffelkultur übertragen, studiert habe. Und zwar habe ich Proben von dem jungen, graufarbenen Überzuge parallel mit solchen aus älteren dunkelgelben Stellen der Untersuchung unterworfen. Es ergab sich nun, wie ich weiter unten nochmals betonen werde, daß in der jungen grauen Schicht die blassen, wenig färbbaren Formen sehr häufig sind, obzwar sie nicht (18 Stunden alte Kultur) über den dunklen prävalieren, wogegen der ältere gelbe Kulturabschnitt fast ausschließlich die dunkelfarbenen Individuen aufzuweisen pflegt. Erst später habe ich dieses Kartoffelmaterial auf Peptongelatine und Agar überimpft. Das Äußere der Kulturen weicht natürlich, was die oberflächliche Struktur der Impfstücke anbelangt, doch auseinander — die mikroskopischen Verhältnisse dagegen stimmen bis in die letzten Details vollkommen überein, nimmt man die Probe von diesem oder einem anderen Nährboden. Auch die Struktur- und Vermehrungsverhältnisse von *Micrococcus ochraceus* sind denjenigen von beiden von uns studierten Sarcinen vollkommen gleich, so daß das, was in dieser Beziehung über den *Micrococcus* gesagt wird, in unbeschränktem Maße auch von den Sarcinen gilt; es wäre also mehr als überflüssig, den Bau der Sarcinen, nachdem wir denselben schon bei *Micrococcus* geschildert hatten, von neuem zu beschreiben. Nur bei der *Sarcina lutea* müssen wir in gewissen Details eine Ausnahme machen. Dieser Organismus besitzt nämlich die ziemlich seltene Eigenschaft (wie z. B. auch der Diphtherieerreger), daß er auf einem passenden Nährboden und in der optimalen Temperatur ungemein üppig wächst, so daß man manchmal schon in 14 Stunden nach der Überimpfung auf dem Nährboden deutliche perlen- oder strichelartige kleine Kolonien, welche, in einer geraden Linie — der Impflinie — nacheinander folgend, schon einer Übertragung fähig sind. In solchen sehr jungen Kolonien begegnen wir Verhältnissen, die gewisse Aufmerksamkeit verdienen, und auf die wir weiter unten zu sprechen kommen werden.

Die **Untersuchungsmethode** ist dieselbe wie bei meinen Studien über die Wasserbacterien. Ich benutzte hier wie dort eine alte polychrome Methylenblaulösung, wobei ich das lebendige Material, in einem Wassertropfen suspendiert, in vivo mit einer sehr feinen Spur des Farbstoffes gefärbt hatte. Man darf nicht soviel Farbe nehmen, bis nach vollendeter Färbung der suspendierten Bacterien

das Gesichtsfeld blaugefärbt erscheint, d. h. ein übergroßer Überschuß der Farbe in dem Wassertropfen übrig bleibt. Dadurch wird die Beobachtung, da das Kontrast hauptsächlich zwischen den blaßgefärbten Bacterien und dem blaugefärbten Medium aufgehoben wird, ziemlich erschwert — geradeso wie wenn man allzuviel Material aus der Kultur auf einmal nimmt; in diesem Falle wieder, bei der Schönheit des mikroskopischen Bildes, wird die Aufmerksamkeit von einem Individuum durch das zu nahe liegende andere fortwährend weiter abgelenkt, und zweitens, wenn man dabei zeichnet, ist es oft schwer, die Zeichnung mit der Wirklichkeit zu vergleichen, weil man das entsprechende Individuum entweder sehr schwer, oder überhaupt nicht mehr in dem allzu dichten Gesichtsfelde findet.

Die **Farbenreaktion** ist verschieden, je nachdem, ob man gleich nach der Verfertigung des Präparates beobachtet, oder ob man zuerst das Präparat einige Stunden oder Tage in einer Feuchtkammer aufbewahrt und erst dann der Beobachtung unterwirft. Große Unterschiede natürlich findet man während der Beobachtung zwischen einem bloß mit dem polychromen Methylenblau gefärbten und einem mit reinem Glycerin nachbehandelten Präparate.

Wenn wir z. B. eine Coccensuspension in destilliertem Wasser vorbereiten, und zwar von *Micrococcus ochraceus*, und dann das Ganze mit einer Spur der Farbe versetzen, so finden wir nach wenig Augenblicken alle vorhandenen Individuen, sie seien in Tetraden vereinigt oder als Diplococcen vorhanden usw., nicht nur gefärbt, sondern auch ganz gut differenziert. Wie bereits erwähnt, finden wir zweierlei Exemplare, von welchen die einen ganz dunkelblau erscheinen, so dunkel, daß man in dem scheinbar homogenen Protoplasma vorläufig keine weiteren Differenzierungen zu unterscheiden imstande ist — und eine Menge von anderen Individuen, deren Plasma einen sehr zarten rotvioletten Ton aufweist und in deren Plasmaleib man mit ungewöhnlicher Schärfe und Deutlichkeit einen oder zwei, manchmal in einem deutlichen lichten (achromatischen?) runden Hofe liegend, dunkel- bis schwarzblaue Kügelchen beobachten kann.

Dunkelblau erscheinen hauptsächlich die Tetraden und Diplococcen gefärbt, die einfachen Coccen sind größtenteils licht. Eine Regel ist dies jedoch nicht im entferntesten, denn man findet sehr oft auch blasse Tetraden und dagegen auch dunkle Coccen (diese jedoch seltener), ja man begegnet nicht selten Tetraden, in welchen ein oder mehrere Glieder blaß und die übrigen dunkel gefärbt erscheinen. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß in dieser Beziehung der Variation ein vollkommen freies Feld gelassen ist.

Etwas anders sieht die Sache aus, wenn man ein auf die soeben beschriebene Weise vorbereitetes Präparat in einer feuchten Kammer bis 24 Stunden (mehr schadet auch nicht) oder mindestens über die Nacht aufbewahrt läßt. Die blassen Individuen büßen ihre lila Farbe vollkommen ein und nehmen einen leichten blauen Ton an, wogegen die dunklen etwas blasser werden. In diesem letzteren Falle kann man sich klar davon überzeugen, daß auch hier eine deutliche Chromatinkugel vorhanden ist. Diese Kugeln nehmen dann in allen Fällen eine glühende rote Farbe an, wodurch ein prachtvolles Bild entsteht. Es ist klar, daß sich durch diese leuchtende Farbe der Kern in den durch ihr blaues Protoplasma sehr kontrastreichen dunklen Individuen nur desto auffallender macht. Nur der farblose Hof läßt sich in diesen dunklen Exemplaren sehr selten beobachten und dies nur noch dann, wo eine Teilungsfigur vorhanden ist.

Ursprünglich, als ich mich gleich nach der Färbung von der inneren Beschaffenheit der dunklen undurchdringlichen Individuen überzeugen wollte, ist mir die Idee gekommen, das Ganze durch ein Aufhellungsmittel etwas für die Untersuchung zugänglicher zu machen. Ich griff also, da es sich um eine Wassersuspension handelte, zum Glycerin. Da bekannt ist, daß das käufliche Glycerin immer verunreinigt ist, fürchtete ich, dieser Umstand möchte die Färbung und die Differenzierung nicht unbedeutend beeinträchtigen. Darum habe ich entweder chemisch reines Glycerin, oder ein solches mit destilliertem Wasser versetzt. Die erwartete Aufhellung fand jedoch trotzdem nicht statt, dafür aber eine mäßige Entfärbung der dunklen Individuen; die blassen haben ihre Farbe (die zarte bläuliche — das ursprüngliche Lila kehrt sich ins Hellblaue um) beibehalten. Dank dieser teilweisen Entfärbung lassen sich sämtliche innere Verhältnisse ganz gut bestimmen. Diese Reaktion ist nicht etwa von dem Glycerin selbst verursacht, sondern von einer komplizierten organischen Säure — der Boroglycerinsäure —, die merkwürdigerweise als solche immer durch Berührung zwischen dem neutralen Glycerin und dem basischen (in dem polychromen Methylenblau enthaltenen) Borax entsteht. Diese Glycerinborsäure wirkt anfangs wie soeben angedeutet — sie wirkt jedoch trotzdem so mild, daß sie erst nach sehr langem (5 Tage und mehr) Einwirken die Färbung merklich aufhebt. Dieses Mittel — man muß natürlich nur einen kleinen Tropfen von Glycerin unter dem Deckgläschen der Bakteriensuspension hinzufügen — kann ich in allen solchen Fällen warm empfehlen, wo sich die vital gefärbten (natürlich nur

während Anwesenheit von einer Spur Borax) Objekte so stark färben, daß man unmöglich in ihre innere Struktur besseren Einblick gewinnen kann. Ich halte diese Methode für ein weit besseres und auch feineres Mittel als die bisher so allgemein bei Methylenblauüberfärbungen angesäuerte (essigsaure) Methylenblaulösung, wie ich mich durch Vergleichung beider Methoden an dem für diese Zwecke sehr geeigneten Objekte, dem *Oidium lactis* überzeugen konnte. Mittels Glycerin, oder besser mittels der Glycerinborsäure in statu nascendi haben sich alle achromatischen Bestandteile der *Oidium*-Zelle vollkommen entfärbt, die chromatischen blieben dunkelblau in allen Nuancen und — was gewiß nicht in letzter Reihe ins Gewicht fällt — dabei blieben die Strukturen gänzlich unversehrt. Das Entfärben mit dem anderen Mittel ist nicht im entfernten so schonend und differenziert auch nicht so fein. Die chromatischen Strukturen sind nicht so lebhaft gefärbt, sind nicht so scharf differenziert und sind dazu noch aufgequollen und werden in jeder Beziehung von dem Eisessiganteile in dem Reagens beeinflußt, ja angegriffen.

Es erübrigt noch eine Reaktion zu erwähnen. Speziell beim *Micrococcus butyricus*, welchen ich auf Kartoffel kultivierte, habe ich beobachtet, daß sich neben den eigentlichen Coccen sehr oft kleine kugelige Tröpfchen befinden, welche, dem Körper des Micrococcus dicht anliegend, dieselbe bläuliche Färbung anzunehmen pflegten. Nur dann, wenn ich das Material von den oberflächlichsten Schichten und vorzugsweise aus dem alten ockergelben Teile der Kultur in den Wassertropfen auf dem Objektglase überimpft hatte, waren keine solchen Gebilde mehr vorhanden. Sehr zahlreich dagegen waren die in Rede stehenden Tropfen im Präparat wahrzunehmen, wenn die Probe mittels einer stärkeren Platinnadel von der Tiefe der grauen (jungen) Partie der Kultur entnommen wurde. Es war keine Struktur in diesen Kügelchen zu konstatieren — übrigens waren auch die Plasmakörper der Micrococcen selbst durchwegs homogen; dieser Umstand bildete also für sich kein differenziales Kennzeichen. Daß es aber keine ausgestoßenen Plasmateilchen waren, dafür schien der Umstand zu sprechen, daß die den dunkeln Individuen anliegenden Tropfen nur wenig Farbe aufgenommen hatten und deswegen nur eine lichtblaue Färbung zeigten. Wären es ausgestoßene Plasmateilchen, so müßte, wenn auch nicht immer, aber doch in gewisser Anzahl, ihr Farbton der Färbung des Micrococcus, dem sie sich anschmiegen, entsprechen, was jedoch nicht der Fall ist. Diese Kügelchen sind immer blaß. Nach längerem Suchen zum Zwecke der Feststellung der Natur dieser winzigen Körperchen habe ich

gefunden, daß dieselben starke Affinität zum Jod zeigen. Vermittels Jodjodkalium färben sich nämlich diese Gebilde lebhaft rotbraun, die Coccen gelb. Man findet nun in der Protistenliteratur speziell sehr häufig Beispiele dafür, daß man zu oft geneigt ist, alle Körper, die z. B. im Protoplasma der Rhizopoden usw. vorkommen und eine ausgeprägte Jodreaktion zeigen, für Glykogen zu halten, was natürlich nicht richtig ist. Ich kann an dieser Stelle die Sache nicht näher auseinandersetzen, sondern ich bemerke nur für meinen speziellen Fall, es handle sich hier um Amyloide als Assimilationsprodukte, da die fraglichen Körperchen im Wasser unlöslich sind. Es ist damit auch leicht erklärlich, warum, wie oben bemerkt wurde, diese Tröpfchen vorzugsweise in der jungen weiß-grauen Schicht vorkommen und hier noch hauptsächlich in der unmittelbaren Nähe vom Nährboden (Kartoffel).

Was nun die **Kerne** und **die Umwandlungen des Kernes** anbelangt, so sei mir erlaubt, an der Hand der beiliegenden Tafel, wo ich eine Reihe von typischen und interessantesten Fällen abgebildet habe, die wichtigsten Strukturverhältnisse des *Micrococcus butyricus* und der *Sarcina rosea* und *lutea* näher zu erörtern.

Wenden wir zuerst unsere Aufmerksamkeit den inneren Strukturen von *Micrococcus butyricus* zu, und zwar den **blassen Individuen**, in welchen sich die feinsten Bauverhältnisse ohne besondere Schwierigkeiten erkennen lassen. Eine Auswahl verschiedener Entwicklungsstadien ist auf der Fig. 1 veranschaulicht. Ein einfacher Coccus weist regelmäßige kugelige Form auf; in der Mitte des zart blau gefärbten Protoplasmas befindet sich ein farbloser kleiner Hof, in welchem ein auffallend dunkelblau oder hochrot gefärbter Körper (die Farbe ist durch weiter oben aufgezählte Bedingungen bestimmt) von unläugbar chromatischer Beschaffenheit. Der Plasmakörper ist gegen die äußere Welt durch keine deutliche Zellmembran begrenzt; auch der achromatische Hof weist keine merkliche Membran auf, obzwar er durch äußerst scharfen Protoplasmarand eingeschlossen ist. Das Protoplasma ist völlig homogen — auch der Chromatinkörper weist keine feineren Strukturen auf. Diese Chromatinmasse liegt entweder in der Mitte des Hofes (Fig. 1 λ, σ, ξ) oder ist wandständig (Fig. 1 α, β, γ usw.). — In einigen Fällen findet man, daß die ursprüngliche centrale Lage des ganzen Kerngebildes verlassen wird und der Kern sich mehr oder weniger gegen den Rand des Plasmaleibes nähert (Fig. 1 α, ι, λ); diese Verschiebung des einfachen, ruhenden Kernes geht in seltenen Fällen so weit, daß der Kern sogar wandständige Lage in dem Plasmaleibe einnimmt (Fig. 1 β, o).

Diese exzentrische Lage oder sogar die Wandständigkeit des ruhenden Kernes muß für vorübergehend angesehen werden. Wenn sich die Kerne zur Teilung vorbereiten, so findet dies in der Mitte der Zelle statt.

Das erste Stadium der Zellteilung ist die Kernteilung, und zwar läßt sich ein Kern in allerfrühesten Vorstadien der Kernteilung danach erkennen, daß die Chromatinkugel nicht mehr eine eigentliche Kugel ist, sondern daß sie sich in einer Richtung verlängert, so daß ein ellipsoidischer Körper entsteht. Dieses Stadium scheint nicht lange zu bestehen, sondern es tritt sehr früh die Teilung in zwei Tochterkügelchen ein, ohne daß sich vorläufig der lichte Hof gleichzeitig teilt; wir finden also in diesen Stadien einen Kern mit zwei Chromatinkugeln (Fig. 1 δ, μ, ν, ϱ). Dies geschieht regelmäßig schon in der Mitte der Zelle — doch findet man, jedoch nur selten, solche Exemplare, wo diese Figur nahe dem Rande oder überhaupt exzentrisch gelagert ist (Fig. 1 ν, ϱ). Schon in diesem Stadium macht sich ein direkter Einfluß auf den Plasmaleib geltend — wir sehen nämlich nicht selten, daß der betreffende Coccus seine regelmäßige kugelige Gestalt einbüßt und ellipsoidisch wird, manchmal ziemlich hochgradig in einer Richtung in die Länge gezogen (Fig. 1 μ, ϱ). Es scheint jedoch die kugelige Gestalt auch für dieses Stadium als Regel zu gelten (Fig. 1 ν).

Solche Fälle, wo der Plasmaleib ellipsoidische Form annimmt, während der Kern im ruhenden Zustande verharrt, sind sehr seltene Ausnahmen, und ich glaube nicht von der Wahrheit viel entfernt zu sein, wenn ich sage, daß die erwähnte längliche Gestalt durch die exzentrische Lage des Kernes verursacht ist (Fig. 1 γ, ι, o).

Der vollendeten Teilung des Chromatins folgt nun die Teilung des achromatischen, das Chromatin umgebenden Hofes nach. Dieses Stadium ist nun durch die wirkliche Zweikernigkeit des Micrococcus gekennzeichnet. Die Tochterkerne liegen zuerst ganz nahe, ja in Berührung, nebeneinander (Fig. 1 $\varkappa$). Später dann rücken die Tochterkerne immer weiter auseinander, so daß die Entfernung derselben zu einer beträchtlichen wird (Fig. 1 ε, η, π). Es muß angenommen werden, daß die maximale Entfernung der Tochterkerne auch deren definitive Lage ist — denn wenn man sich in die soeben bezeichneten, diesem Stadium entsprechenden Figuren die kurze Achse eingezeichnet denkt, so sieht man, daß die maximal entfernten Tochterkerne in die Mitte beider so entstandenen Hälften und somit auch in die Mitte der künftigen Tochtermicrococcen fallen werden.

In der Fig. 1 unter ϑ und ξ finden wir zwei äußerst seltene

abnorme Fälle abgebildet. Im ersten Falle finden wir zwei soeben die Teilung absolvierte Tochterkerne, die noch einander berühren. Die ganze Figur ist jedoch nicht, wie es die Regel ist, central in dem Plasmaleibe gelegen, sondern es liegt die ganze Figur knapp an der Peripherie des in Teilung begriffenen Coccus. Es ist jedoch anzunehmen, daß wahrscheinlich die ganze Figur in den folgenden Stadien wieder in die Mitte des Plasmaleibes rücken und die ganze Teilung, von diesem Stadium abgesehen, doch ganz regelmäßig vor sich gehen wird. — In dem zweiten Falle begegnen wir dann einer merkwürdigen Konstellation zwei soeben geteilter Coccen. Die Teilung des Plasmaleibes ist jäh in dem Augenblicke eingetreten und wurde so rasch vollzogen, als die Tochterkerne noch in Berührung waren, daß zwei regelmäßige, kugelige Coccen entstanden sind, die sich in einem Punkte berühren. In demselben Punkte berühren sich nun auch die beiden bisher nicht voneinander gerückten Tochterkerne.

In der Fig. 1 sub ξ begegnen wir endlich einem Stadium, wo die Plasmamassen soeben in der Teilung in zwei Tochterindividuen begriffen sind, wobei sich gleichzeitig schon der eine Tochterkern zur Bildung von zwei neuen Enkelkernen anschickt.

Die dunkeln Coccen vermehren sich in derselben Weise — man findet nur kleine Unterschiede zwischen den Bildern, welche die blassen Individuen darbieten, und denjenigen der dunkeln. In der Fig. 2 ist eine Reihe von einfachen dunkeln Coccen, sowie Diplo-, Triplococcen und Tetraden veranschaulicht.

In den gesamten Figuren findet sich das metachromatisch hochrot gefärbte Chromatin. Nur kommen hier keine achromatischen Höfe um die Chromatinkugeln vor. Nur hier und da, und zwar nur dann, wenn eine Teilungsfigur vorhanden ist, läßt sich doch die Anwesenheit einer achromatischen Substanz erkennen (Fig 2 $\varkappa$).

Auch hier bildet die Ausgangsform ein regelmäßig kugeliger Coccus, in dessen Mitte das dunkle (nach Ausziehen der Farbe und dadurch bedingtem Blasserwerden des Protoplasmas) oder hochrote Chromatinkügelchen liegt (Fig. 2 α). Wie bei den blassen Individuen, so auch hier, kommen ausnahmsweise Fälle vor, wo der Kern exzentrisch und sogar randständig ist (Fig. 2 ε, π). Die Teilung in dem einfachen Micrococcus findet in der Mitte des Protoplasmaleibes statt; sie geschieht durch eine einfache Zweiteilung des Chromatins. In diesem Anfangsstadium finden wir also auch hier in einem Coccus zwei Kerne (Fig. 2 ϑ). Die Tochterkerne entfernen sich voneinander und nehmen eine Stellung an den Endabschnitten eines Diameters

ein (Fig. 2 λ). Diese maximale Stellungsweise der Tochterkerne ist bei den dunkeln Micrococcen eine gesetzmäßige für alle Figuren, für Diplo-, Triplococcen und auch solche, natürlich sehr seltene Fälle, wo noch in der Tetrade in irgendwelchem Gliede derselben eine Teilung geschehen sollte. Es sei nämlich schon hier bemerkt, daß die Tetrade den Abschluß der Teilung von Coccen in der Gesellschaft von anderen Individuen bildet. Später löst sich wahrscheinlich die Tetrade auf und die einzelnen Individuen werden selbständig, um sich dann höchstwahrscheinlich weiter zu teilen. Nicht nur die Stellung der Tochterkerne bei der Teilung bildet einen Unterschied zwischen den blassen und dunkeln Individuen, sondern auch der Umstand, daß nach der vollendeten Teilung die blassen Individuen regelmäßig lange Zeit einander angeschmiegt bleiben und nur eine Scheidewand zwischen einander zu bilden pflegen (Fig. 3). Hier und da finden wir auch, daß zwischen den beiden Tochterindividuen eine Spalte, wie dies bei den dunkeln Individuen als Regel gilt, entsteht (Fig. 3 α) — dies muß jedoch ein rasch vorübergehendes Stadium sein, da es nur selten vorkommt —, eher findet man bei den blassen Individuen außer dem obenerwähnten Vorhandensein von Scheidewänden nicht selten Fälle, wo die einzelnen Individuen, auch in einer Tetrade gruppiert, voneinander vollkommen getrennt sind und einander nur in einem Punkte berühren. Für beide Modi findet man einige Beispiele in der Fig. 3.

In der Fig. 2 findet man verschiedene Variationen der Zellteilung und Tetradenbildung, welche keiner besonderen Besprechung bedürfen.

Auch in der Fig. 3 kennt man sich ohne weiteres gut aus, und ich glaube, daß eine ausführliche Erklärung einzelner hier abgebildeter Fälle, nachdem wir schon weiter oben die Teilungsvorgänge ziemlich gründlich geschildert haben, überflüssig wäre. Es sei mir nun erlaubt zu bemerken, daß die hier vorgeführten Figürchen einem und demselben Präparate entlehnt sind, jedoch in zwei verschiedenen Zeiträumen. Das ist übrigens, wenn man sich an das in dem Absatze über die Farbenrelationen Gesagte gut erinnert, ohne weiteres gleich bemerkbar. Denn in einem Teile von den Figuren sind die Kerne dunkelblau, und in diesem Falle sind die achromatischen Höfe nicht sichtbar, und in der anderen Gruppe findet man rotgefärbte, mit leicht bemerkbarem Hofe umgebene Chromatinkugeln vor. Die ersterwähnte Gruppe ist gleich nach dem Färben gezeichnet worden, wogegen die andere erst nach

längerem Verbleiben desselben Präparates in der Feuchtkammer zur Beobachtung herangezogen worden ist. Nebst den Coccen in verschiedenen Gruppen angeordnet und von verschiedener Beschaffenheit — die einen blaß, die anderen dunkel, und nicht selten beide in derselben Gruppe — sieht man auch die winzigen Amyloidtropfen. Die dunkeln Individuen zeigen bis auf zwei Fälle (γ und δ) keine so weit vorgeschrittene Differenzierung, um die Kerne zu verraten. Zahlreiche von den dunkeln Individuen sind klein und klappenartig den regelmäßigen blassen anliegend, so daß man sich manchmal dem Eindrucke nicht erwehren kann, als ob die dunkeln durch eine Knospung aus den blassen entständen (Fig. 3). Dafür scheinen solche Beispiele zu sprechen, wo auf zwei nicht ganz voneinander gelösten Tochtercoccen zwei dunkle, eigentümlich voneinander getrennte Individuen vorhanden sind (η, ϑ rechts), und vielleicht noch mehr solche Fälle, die nur selten, aber doch vorkommen, wo ein einfacher Coccus zwei kleine dunkle Kappen trägt, die sich dem hellen Protoplasma sehr eng anschmiegen (Fig. 3 ξ). Gegen diese, natürlich nicht fester begründete Vermutung sprechen viele andere Gründe — in erster Reihe der, daß man keinen Anfangsstadien irgendeiner Knospung begegnet, und auch Fälle vorhanden sind, wo auch zwei vollkommen schon getrennte blasse Tochterindividuen ein dunkles, beiden anliegendes tragen (α).

In der Fig. 3 β begegnen wir einem extraordinären, sehr seltenen, ja man kann sagen vereinzelten Falle, wo sechs Individuen in einer Figur auf einmal vorkommen. Daß sich hier das Ganze in zwei Tetraden sehr bald anordnen wird, läßt sich einfach aus dem Grunde leicht voraussagen, weil zwei von den blassen, hier vorhandenen Individuen bereits in Teilung begriffen sind, wodurch im ganzen acht Individuen in der Figur vertreten sind, die sich dann vielleicht vollkommen trennen werden, oder zwei Tetraden bilden werden.

Die anderen Figürchen sind, glaube ich, von selbst leicht verständlich.

Den Sarcinen — bisher haben wir nur von dem *Micrococcus butyricus* gesprochen, sind die Figuren 4—6 gewidmet. Wir haben schon öfters betont, daß die Morphologie von zwei von uns studierten Sarcinen dieselbe ist, wie die bei *Micrococcus ochraceus* gewonnenen Aufschlüsse. Aus diesem einfachen Grunde habe ich nun das von den Sarcinen abgebildet, was entweder von den Verhältnissen, wie sie bei *Micrococcus* vorkommen, etwas abweicht, oder was

etwas Neues oder Interessantes darbietet, was wir bisher nicht erkannt haben.

An der Fig. 4 bei α ist ein Coccus mit ruhendem Kern abgebildet, um zu beweisen, daß der Bau desselben demjenigen bei den Micrococcen völlig entspricht. Bei β und γ sehen wir Gruppen, welche aus blassen und dunkeln Individuen gleichzeitig bestehen, wobei in zwei Fällen eine Teilung von Chromatinkugeln vorhanden ist. Bei Sarcinen scheint nun die randständige Stellung von Tochterkernen in den blassen Individuen viel häufiger vorzukommen als bei dem *Micrococcus* (Fig. 4 δ), obzwar als sicher bezeichnet werden kann, daß auch hier die centrale Lage der Kerne nach vollendeter Teilung als Regel gilt (ε).

Im allgemeinen kann man nun sagen, daß die Entfärbung bei den von mir beobachteten Sarcinen eine stärkere ist, wie unsere Fig. 5 durchwegs zeigt, als bei dem *Micrococcus butyricus*, obzwar die ursprüngliche Färbung bei allen Arten eine und dieselbe ist. Denn nach dem Beimischen von Glycerin werden nach einiger Zeit die blassen Individuen fast ganz farblos, wogegen die ursprünglich dunkeln beinahe denselben Farbton annehmen, wie bei der ursprünglichen Färbung die blassen Individuen haben.

Ein weiterer Unterschied von dem *Micrococcus butyricus* ist der, daß die Sarcinen eine ziemlich starke Zellmembran besitzen, welche hauptsächlich bei den blassen entfärbten Individuen zum Vorschein kommt (Fig. 5), was bei dem *Micrococcus* nicht der Fall war.

Drittens muß bemerkt werden, daß hier viel öfters, auch dort, wo die Tochterzellen beisammen bleiben, nicht bloße Scheidewände, sondern Spalten vorkommen, wie dies schon für die dunkeln Individuen beim *Micrococcus* betont wurde. Diese Regel gilt in gleichem Umfange für die blassen wie für die dunkeln Sarcinazellen, wogegen wir bei dem *Micrococcus ochraceus* für die blassen Individuen festgestellt haben, daß dort die Scheidewände häufiger als Spalten vorzukommen pflegen, indem die letzteren fast eine Ausnahme bilden.

In der beiliegenden Fig. 5 sind verschiedene Stadien der Zellteilung und überhaupt verschiedenartige Zellkonstellationen, für *Sarcina rosea* und *lutea* gültig, veranschaulicht. Ich glaube, auch hier ist es vollkommen überflüssig, die Sache von neuem zu beschreiben, da wir ganz analoge Fälle schon weiter oben besprochen und die etwaigen Unterschiede soeben kurz hervorgehoben haben.

Es bleibt nunmehr noch die Fig. 6, welche recht fremdartig im Verhältnis zu den anderen Figuren ausschaut, zu besprechen

übrig. Es sind hier sehr interessante Sachen in einer kleinen Auswahl abgebildet.

Es handelt sich hier um eine regelrechte **Syncytienbildung bei *Sarcina lutea*.** Ich habe schon eingangs bemerkt, daß *Sarcina lutea* unter günstigen Kultivationsbedingungen recht üppig wächst. Dieser Umstand macht auch die in Rede stehenden abweichenden Bilder ganz leicht verständlich. Wir haben lauter blasse, von der Kugelform weit abweichende Individuen vor uns, die von einer 18 Stunden alten Peptongelatine-Kultur herstammen. Es wiederholt sich hier dieselbe Tatsache, die wir oben für *Micrococcus ochraceus* betont haben, daß nämlich in den jungen Kulturen, bzw. in den jungen Stellen einer und derselben Kultur die blassen Individuen viel zahlreicher vertreten sind als in älteren, wo wieder die dunkeln Exemplare die blassen sehr auffallend in den Hintergrund verdrängen. Wie soeben bemerkt wurde, handelt es sich hier um eine 18 Stunden alte Kultur — es sei noch bemerkt, daß die Syncytien in jüngeren noch zahlreicher vorkommen als hier. Außerdem sind natürlich überall typische Formen durchwegs in reger Teilung begriffen.

Die Syncytien sind nicht schwer zu erklären: das außerordentlich schnelle Wachstum der Kultur setzt eine außergewöhnlich rasche Teilung der einzelnen Individuen voraus. Bei der *Sarcina lutea* geht nun diese Zellteilung so rasch vor sich, daß sich die Kerne viel rascher teilen, als es der Protoplasmamasse möglich ist. Aus diesem Grunde natürlich kommen Individuen zur Ausbildung, welche in ihrem Protoplasma mehr als einen oder zwei Kerne beherbergen. Verfolgen wir nun diese Erscheinung mit Hilfe der entsprechenden Fig. 6 der beiliegenden Tafel.

Bei α und β finden wir eine dreieckige Portion von Protoplasma. In den Winkeln dieser Dreiecks kommt je ein Kern vor. Es ist klar, daß diese Figur so entstanden ist. daß sich in einem wahrscheinlich normalen Coccus der Kern in zwei Tochterkerne teilte und dann gleich einer dieser Tochterkerne von neuem eine Teilung durchmachte. So entstanden 3 Kerne. Da nun das Protoplasma keine Teilung vollstreckte, und da wir wissen, daß die Tochterkerne immer, und hier bei Sarcinen sehr stark entwickelte Abstoßungskraft untereinander aufweisen, so sind die drei Kerne voneinander gestrebt und somit dem Plasmaleibe eine dreieckige Gestalt verliehen. In der Figur ε haben beide Tochterkerne gleichzeitig eine neue Teilung eingeführt — und auch hier ist durch das Vorhandensein von vier Enkelkernen eine viereckige Gestalt gebildet. Die Form des Syncytiums kann sich verändern, je nachdem, wieweit

die Teilung der Tochterkerne vorgeschritten ist. Dafür spricht z. B. der Fall η und λ. In diesen beiden Fällen begegnen wir zwei länglichen, zungenartigen Gebilden. In dem Falle η ist der untere Tochterkern bereits in zwei Enkelkerne zerfallen, die noch ziemlich nahe liegen. Wenn dieselben weiter voneinander rücken werden, so wird eine dem Falle α ähnliche Figur mit fast gleichen Seiten resultieren. Aus dem Falle λ erhalten wir dann eine der Figur ε ähnliche Gestalt.

In diesem letzteren Falle λ begegnen wir auffallenden hantelförmigen Figuren der Kernteilung. Es sei bemerkt, daß dieser Fall allein dasteht und daß ich ähnlichen Figuren bei dem *Micrococcus ochraceus* und bei den Sarcinen sonst nie begegnete.

Der Fall ξ ist dadurch sehr interessant, daß sich die zwei unteren Enkelkerne gerade auch geteilt haben, wobei sie sich noch an der Stelle der mütterlichen Kerne befinden, wogegen einer der ursprünglichen Tochterkerne noch ungeteilt geblieben ist und die obere Spitze der triangulären Figur einnimmt. Die dreieckige Form des Protoplasmas ist eben durch das vorläufige Verbleiben an der ursprünglichen Stelle seitens der jüngsten vier Kerne bedingt.

In derselben Figur nun kann eine andere Erscheinung wahrgenommen werden, nämlich die, daß im Verlaufe der Abstoßung der Kerne eine Ansammlung von Plasmaportionen um die Kerne herum stattfindet, die offenbar später zur Rekonstruktion normaler Coccen führt. In der Fig. γ und δ kommen dieselben Verhältnisse vor.

Die letzten Figuren ι bis ν lassen nun klar erkennen, daß, nachdem sich die anderen Kerne mit ihren entsprechenden Plasmaportionen von den in Rekonstruktion begriffenen, in den Plasmaresten steckenden, hier abgebildeten Coccen abgelöst haben und selbständig geworden, um dieselbe Rekonstruktion durchzumachen — daß also die Kerne schon von einem abgerundeten und dichten Plasmaleibe umgeben sind.[1]) Ein Bruchstück der Kontur des ursprüglichen Syncytiums bilden noch die engen Plasmastreifen oberhalb oder zwischen den jungen Coccen. Bis diese Streifen verschwinden und die Plasmaleiber, wo sie miteinander in Zusammenhang stehen, selbständig werden, sind die jungen, aus dem Syncytium entstandenen Coccen ganz frei und weichen in keiner Richtung von denjenigen durch typische Teilung entstandenen ab.

Pilsen, den 1. Februar 1910.

[1]) Alle diese Figuren sind etwas größer gehalten im Verhältnis zu den übrigen ($\varkappa$—ϑ) in der Fig. 6.



(Mitteilung aus der K. K. Zoologischen Station in Triest.)

Über die Beziehung der sog. „gelben Zellen“ zu den koloniebildenden Radiolarien.

(Ein Versuch.)

Von

Dr. **Gustav Stiasny**, Triest.

(Hierzu 18 Textfiguren.)

Inhaltsübersicht.

I. Einleitung.

Bei den von Dr. Theodor Moroff und mir (13) über die Entwicklung von Acanthometriden angestellten Studien haben wir festgestellt, daß dieses Radiolar kein einfaches Tier ist, sondern eine Kolonie von Einzelindividuen darstellt, welche innerhalb der sog. Centralkapsel verteilt sind. Es gelang uns klarzulegen, daß die in der Centralkapsel regelmäßig vorhandenen sog. „symbiontischen Algenzellen“ in den Entwicklungskreis dieses Radiolars selbst gehören und als jugendliche Individuen desselben angesehen werden müssen, deren trophischer Kern gelblich-grün gefärbt ist. Es ist klar, daß in uns der lebhafte Wunsch entstand, von dieser neugewonnenen Auffassung ausgehend auch die übrigen koloniebildenden Radiolarien einer Revision zu unterwerfen. Leider wurde die gemeinsam begonnene Arbeit durch die Abreise von Dr. Moroff nach Wien gestört. Ich entschloß mich daher die Arbeit fortzusetzen und wenn möglich zu Ende zu führen. Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Dr. Theodor Moroff für sein wahrhaft freundschaftliches Verhalten und für die Förderung, die er mir zuteil werden ließ, auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Wenn ich mich nun, der Lückenhaftigkeit der Untersuchung voll bewußt, schon jetzt zur Publikation der folgenden Mitteilung entschlossen habe, so geschieht dies deswegen, weil ich voraussichtlich nicht so bald in der Lage sein werde, jenes Material zu sammeln, das die mir fehlenden Entwicklungsstadien der Sphärozoen enthält,[1]) andererseits aber doch die mich seit vielen Monaten beschäftigende Arbeit zu einem vorläufigen Abschlusse bringen will. Ich habe die

[1]) Wie auch M. Hartmann und E. Hammer in einer kürzlich erschienenen vorläufigen Mitteilung über die Fortpflanzung von Radiolarien (Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin Nr. 4 1909) hervorheben, sind gerade die für die vorliegende Untersuchung so wichtigen Stadien mit großen Kernen äußerst selten zu finden. Hartmann konnte diese Jugendformen während eines längeren Aufenthaltes in Messina nur ganz vereinzelt finden, ebenso ist es Hertwig viele Jahre zuvor ergangen. Brandt hat derartige Stadien trotz seines jahrelangen Aufenthaltes in Neapel nie beobachten können. Nach Hertwig sind die fraglichen Stadien Tiefenformen, die durch eine vertikale Strömung bei Messina an die Oberfläche heraufgetragen werden, während sie bei Neapel wegen des Mangels einer derartigen Strömung vollständig fehlen. Auch in meinem Material aus Messina waren vereinzelte Exemplare mit einem großen Kern zu finden (Fig. 11). Es müßte, um eine genügende Anzahl solcher Stadien zu erhalten, bei Messina längere Zeit hindurch speziell danach gefischt werden.

vorliegende Mitteilung als einen Versuch bezeichnet. Tatsächlich ist sie auch nicht mehr, da ich nicht in der Lage bin, durch eine lückenlose Reihe von Entwicklungsstadien die von mir im folgenden ausgesprochene Behauptung zu bekräftigen und zu belegen. Gleichwohl glaube ich aber, meinen Standpunkt in dem nachfolgenden kurzgefaßten Berichte hinreichend vertreten zu können.

II. Spezieller Teil.

Ich werde in der Darstellung verschiedene Repräsentanten der Sphärozoen berücksichtigen, wobei ich jedoch auf die Entwicklung dieser merkwürdigen Protozoen nur insoweit eingehen will, als es notwendig erscheint, um den Zusammenhang, der zwischen der Algenzelle und den Radiolarien selbst besteht, zu demonstrieren. Es muß einer anderen Arbeit vorbehalten bleiben, auf die Entwicklung und die mit ihr in Zusammenhang stehenden Erscheinungen, sowie auf die einer erneuten Durcharbeitung bedürftige Systematik der noch viel zu wenig erforschten Sphärozoen ausführlich einzugehen.

Da von Sphärozoen nur Collozoum und auch das nur spärlich und gelegentlich im Plankton des Golfes von Triest auftritt, war ich bei meiner Untersuchung auf Material angewiesen, das ich von auswärts beziehen mußte Zum größten Teile stammt dasselbe, das zu verschiedenen Jahreszeiten, meist aber gegen Ende November 1908 gefischt sein dürfte, vom Zoologischen Institut der Universität Messina, aus einer Zeit kurz vor der Katastrophe. Auch von der Neapler Zoologischen Station habe ich zu verschiedenen Malen reichlich Sphärozoenmaterial erhalten. Bei einem Aufenthalte in Neapel im November v. J., den ich leider, durch andauerndes Unwohlsein gezwungen, allzufrüh abbrechen mußte, hatte ich Gelegenheit, Beobachtungen am lebenden Objekte zu machen und erhielt reichliches Material. Ich möchte an dieser Stelle nicht unterlassen, den Herren der Neapler Zoologischen Station meinen Dank für die mir zuteil gewordene Unterstützung auszusprechen. Die Konservierung des Materials erfolgte mit FLEMMING'scher Flüssigkeit und Sublimat-Eisessig. Färbung mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und nach dem Verfahren von BENDA.

Herrn Prof. Dr. CORI sage ich meinen Dank für das der Untersuchung entgegengebrachte Interesse.

Bevor ich auf die Darstellung der Verhältnisse bei den einzelnen Arten eingehe, möchte ich zunächst einige allgemeine Bemerkungen über den Bau der koloniebildenden Radiolarien vorausschicken. Jede Kolonie besteht aus einer kleineren oder größeren Anzahl von Individuen (Nestern), welche in eine gemeinsame Gallerte eingebettet sind. Diese Individuen sind in der Regel vielkernig. In der Gallerte sind auch die sog. „gelben Zellen“ ziemlich gleichmäßig zerstreut, manchmal finden sich dieselben an der Peripherie oder in der Nähe der Nester dichter angehäuft. Außerdem kommt es bei vielen Kolonien zur Bildung eines Skelets.

Der folgenden Schilderung möchte ich — das Hauptergebnis der Untersuchung kurz zusammenfassend — vorausschicken, daß die sog. „gelben Zellen“ Jugendstadien der erwachsenen Individuen (der sog. „Nester“) darstellen. Man kann also beide Stadien als „Schizonten“ bezeichnen, doch will ich im folgenden 2 charakteristische Entwicklungsstadien der Schizonten unterscheiden: 1. das Zooxanthellen(Algen)-Stadium, das Stadium der „gelben Zellen“; 2 das vielkernige Stadium des erwachsenen Individuums („das Nest“). „Erwachsen“ sind solche Individuen, welche, auch wenn sie einkernig sind, nicht mehr das Aussehen der gelben Zellen aufweisen.

Ich beginne bei der Darstellung mit dem Genus *Collosphaera*. Dieses Genus ist dadurch ausgezeichnet, daß es zur Ausbildung einer Gitterschale um die erwachsenen Individuen kommt. Die erwachsenen „Nester“ weisen eine Größe von 40—45 μ auf. Ihr Plasma ist weitwabig. Einkernige Individuen konnte ich bis jetzt nicht beobachten. Meistens waren die Kerne in größerer Anzahl vorhanden. Einige sind in Ruhe, andere weisen verschiedene Teilungsstadien auf (Fig. 1). Es kommt bei den sich teilenden Kernen zur Ausbildung von Chromosomen (wahrscheinlich 4 an der Zahl). Regelmäßig sieht man außerdem andere sich durch ihre Größe und Struktur auszeichnende Kerne, von denen sich nicht mit Sicherheit sagen läßt, ob das in der Teilung zurückgebliebene (verspätete) Kerne sind, oder ob sie eine zweite Art von Kernen, wie etwa trophische Kerne darstellen. Mehr an der Oberfläche der Nester, im Schnitte an der Peripherie, sind Chromidien in Form von Körnchen oder Stäbchen in beträchtlicher Menge vorhanden. Es hat den Anschein, wie wenn diese Chromidien den größeren Kernen ihre Entstehung zu verdanken hätten. Während der Kernteilungen sieht man hier und da, daß einzelne Kerne, besonders solche, die sich in der Nähe der Oberfläche befinden, eine Veränderung ihrer Struktur erfahren. Zuerst

wird ihr Chromatin grobkörnig. Die großen Chromatinkörnchen zerfallen in kleinere, welche sich zu deutlichen Reihen anordnen und zum Centrum des Kernes zusammenlaufen. Auch die Struktur des Plasmas um den Kern erfährt eine Veränderung, indem es feinwabiger wird. Gleichzeitig damit tritt der Kern mit dem ihn umgebenden Plasma etwas über die Oberfläche des Nestes hervor. Darauf grenzt sich der Kern mit etwas Plasma von dem übrigen Individuum ab. Gleichzeitig entstehen 2—3 nucleolenähnliche Gebilde, die ich als Chromatophoren resp. als Pyrenoide anzusehen geneigt bin. Diese abgeschnürte Partie des Plasmas mit dem Kern hat das Aussehen und die Struktur der „gelben Zellen", welche in der gemeinsamen Gallertschicht verstreut zu sehen sind. Ich bezeichne sie als Schizonten, welche durch Knospung aus dem erwachsenen Individuum entstanden sind. Die Knospung kann sich an einem Individuum öfters wiederholen, so daß dann zahlreiche Schizonten in unmittelbarer Nähe des Nestes, von dem sie sich abgeschnürt haben, zu haben sind. Fig. 1 stellt die Hälfte

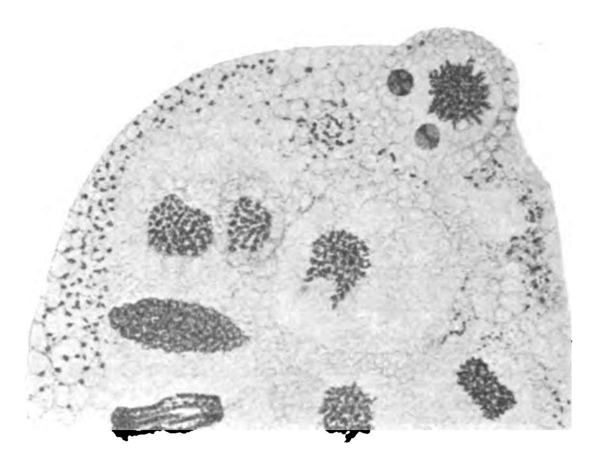


Fig. 1. *Collosphaera huxleyi.* Hälfte eines erwachsenen Individuums mit Kernen in verschiedenen Teilungsstadien und knospender „Alge". Vergr. 2250:1.

eines erwachsenen Individuums dar, an dem ein solcher Schizont (Algenzelle), der sich gerade ablöst, deutlich zu sehen ist. Nach innen zu ist noch keine Grenze zu beobachten. Die Kerne der Schizonten sind vollständig identisch mit denen der Nester und stimmen mit ihnen in Größe und färberischem Verhalten ganz überein.

Alte Individuen zerfallen gewöhnlich simultan[1]) in eine Anzahl von Kugeln, die ich als Merozoiten bezeichnen will. In diesen Merozoiten ist der Kern sehr stark verblaßt, d. h. er läßt sich durch die verschiedenen Farbstoffe nicht färben (Fig. 2). Erst später beginnt er von neuem sich stark zu färben (Fig. 3). Gleichzeitig gibt er eine größere Menge seiner Substanz an das Plasma ab, woraus nucleolenähnliche runde Kugeln oder das in späteren Stadien im Plasma nachweisbare spongiöse Gerüst gebildet wird (Fig. 4).

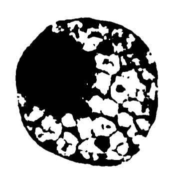




Fig. 2. Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 2. *Collosphaera huxleyi.* Merozoit mit stark entfärbtem Kern. Vergr. 2250 : 1.
Fig. 3. *Collosphaera huxleyi.* Merozoit in Umwandlung zum Schizonten begriffen. Vergr. 2250 : 1.
Fig. 4. *Collosphaera huxleyi.* Schizont (Algenstadium). Vergr. 2250 : 1.

Dadurch wandelt sich der Merozoit in einen Schizonten um. Während des weiteren Wachstums des letzteren tritt von Zeit zu Zeit etwas Chromatin aus dem Kern heraus, das sich zu neuen „Nucleolen“ umwandelt. Häufig ist eine Zweiteilung des Schizonten in diesem Stadium zu sehen. Die durch Knospung und simultanen Zerfall des ganzen Individuums entstandenen Merozoiten treten durch die Löcher der Gitterschale heraus. Manche nehmen schon innerhalb der Gitterschale Form und Aussehen der gelben Zellen an. Die Entstehung der gelben Zellen bei *Collosphaera* innerhalb der Schale, also innerhalb des Nestes, ist also eine völlig sichere. Leider gelang es mir bisher nicht, bei dieser Art die Umwandlung des Algenstadiums in das erwachsene Individuum festzustellen.

Ich möchte hier einige Beobachtungen über die Entstehung des Skeletes kurz erwähnen. Das Skelet wird bei *Collosphaera* erst ziemlich spät ausgebildet, sobald die Nester ihre normale Größe erreicht haben. Die Grundlage des Skeletes bildet eine häutige oder besser plasmatische Anlage mit großen Vacuolen. Auf diesem Plasmagerüst, das im Schnitte als Netzwerk erscheint, verstreuen

[1]) Dies hat schon HAECKEL bei *Collozoum* und *Sphaerozoum* beobachtet und diese Erscheinung als Vermehrung durch endogene Keimbildung bezeichnet. Merkwürdigerweise hat er sie gerade bei Collosphaera nie gesehen (10, p. 147/8).

sich die Chromidien, die aus zahlreichen trophischen Kernen auswandern, welche sich förmlich aufzupulvern scheinen. Die Chromidien verlieren dann ihre Färbbarkeit, werden immer stärker lichtbrechend und verschmelzen dann miteinander von losen Körnchen zu einem einheitlichen gitterartig durchbrochenen Skelet. In einer einzigen Kolonie von *Collosphaera* kann man alle Übergänge der Skeletbildung finden. Es gibt ganz nackte Individuen mit bloßem plasmatischen Gerüst, solche mit ganz dünner Schale, an der man noch die Zusammensetzung aus einzelnen Körnchen wahrnehmen kann, endlich solche mit typisch ausgebildeter Schale. Das wichtige dabei ist, daß das Chromatin der trophischen Kerne das Material für Verkieselung liefert, mit anderen Worten, daß die das Skelet zusammensetzende Kieselsäure ein Kernderivat ist.

Bei der nunmehr zur Besprechung gelangenden Kolonie von Sphärozoen war es nicht möglich, Genus und Spezies zu bestimmen, wie ja auch Brandt wiederholt auf die Schwierigkeit der Bestimmung konservierten Materials hingewiesen hat. Jedenfalls steht die Form dem Genus *Collozoum* durch den Mangel des Skeletes nahe, unterscheidet sich aber bei erwachsenen Individuen durch die beträchtliche Größe und geringe Anzahl der central gelagerten Kerne und durch den kleineren Öltropfen. Möglicherweise ist es *Collozoum pelagicum*. — Während das Algenstadium dieser Form mit dem homologen der vorhin beschriebenen Art fast ganz übereinstimmt, zeigt sich bei älteren Individuen ein Unterschied, indem man hier neben dem Kern regelmäßig eine durch die verschiedenen Farbstoffe sich stark färbende Kugel zu sehen bekommt, während sie bei *Collosphaera* eine mehr vereinzelte Erscheinung ist. Soweit ich feststellen konnte, stellt diese Kugel einen etwas herangewachsenen Nucleolus dar, der seine Struktur verändert hat. Durch Hinzutreten neuer Nucleolen erfährt sie eine bedeutende Vergrößerung. Die neuen Nucleolen entstehen aus dem Kern als kleine Kügelchen. Im Plasma dieser Schizonten ist ein spongiöses Gerüst vorhanden, das sich mit vielen Farbstoffen intensiv färbt; auf die Natur desselben werde ich jedoch erst später eingehen. Eine lückenlose Reihe von Umwandlungsstadien der Schizonten (gelben Zellen) in die erwachsenen Individuen habe ich nicht erhalten können. Immerhin gelangten manche Stadien zur Beobachtung, welche die Kluft zwischen diesen beiden bedeutend verringern. Es gelang nämlich, solche erwachsene Individuen in der Kolonie zu beobachten, deren Kern stark herangewachsen war und lappige Auswüchse zeigte. Er war zweifel-

los im Begriff, in mehrere Tochterkerne zu zerfallen. Neben ihm befand sich eine stark gefärbte Kugel, welche genau so aussah wie diejenige, die früher bei den Schizonten beschrieben wurde, nur daß sie bedeutend größer war. Diese Kugel wurde von den früheren Autoren als Ölkugel bezeichnet, ich werde darauf später noch zurückkommen. Die neu entstandenen Tochterkerne in den Schizonten teilen sich auf direkte Weise, wobei sie bei der Durchschnürung eine hantelförmige Gestalt annehmen. Das Chromatin ist mehr in der Mitte, d. h. an der eingeschnürten Stelle des Mantels angesammelt, so daß die kolbenförmigen Verdickungen meist chromatinfrei sind. Am Ende der Kernvermehrung, deren Resultat ca. 10—12 Kerne sind, verdichtet sich in den meisten Fällen das Chromatin auf der einen Seite des Kernes (Fig. 5). Diese Kerne nehmen nur einen Teil des Individuums ein. Nach der Form, welche sie aufweisen,

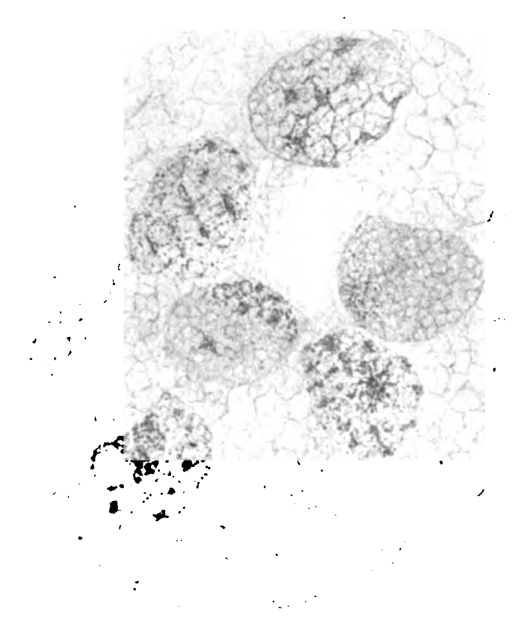


Fig. 5. *Collozoum pelagicum* (?). Ganzes Individuum mit fast ausgebildeten Merozoiten. Vergr. ca. 1800 : 1.

zu schließen, besitzen sie die Fähigkeit amöboider Bewegung (Fig. 6), vermöge welcher sie aus dem mütterlichen Körper auswandern und in der Gallertschicht sich zu den sog. gelben Zellen, den Schizonten, umwandeln. Sehr oft wandern sie nicht aus, oder sie erfahren diese Umwandlung, bevor sie auswandern, wodurch eine größere Anzahl

von Schizonten entsteht, welche dicht beisammen sind und zwischen denen man oft auch die Struktur des mütterlichen Individuums noch deutlich ersehen kann.

Die Umwandlung der Merozoiten in Schizonten erfolgt in der Weise, daß der Kern sich rasch auflockert und sein peripheres Chromatin an das umgebende Plasma abgibt, wo es sich einerseits zu dem spongiösen Gerüst, andererseits zu den Nucleolen (Chromatophoren) umwandelt (Fig. 7). Gleichzeitig mit dieser Chromatinabstoßung verblaßt der Kern so stark, daß man ihn eine Zeitlang nicht zur Darstellung bringen kann. Eine vollkommene Auflösung halte ich jedoch für kaum wahrscheinlich. Bald gewinnt er wieder an Färbbarkeit (Fig. 8), indem er gleichzeitig die für diese Entwicklungsstadien charakteristische Struktur erlangt.

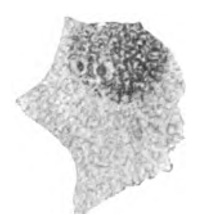


Fig. 6.

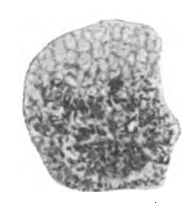


Fig. 7.

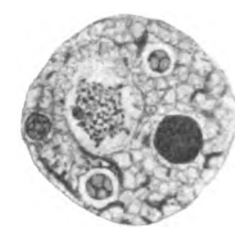


Fig. 8.

Fig. 6. *Collozoum pelagicum* (?). Merozoit von amöboider Form. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 7. *Collozoum pelagicum* (?). Merozoit in Umwandlung zum Schizonten. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 8. *Collozoum pelagicum* (?). Junger Schizont. Vergr. 2250 : 1.

Collozoum inerme. Die jungen Schizonten unterscheiden sich nur ganz unwesentlich von den korrespondierenden Stadien der vorhergehenden Formen. Das im Plasma vorhandene spongiöse Gerüst ist hier stärker entwickelt, die Nucleolen sind in größerer Zahl vorhanden (Fig. 9). Schon frühzeitig tritt neben dem lockeren Kern die sogenannte Ölkugel auf. Sie verdankt in den meisten Fällen ihre Entstehung einem oder mehreren Nucleolen, welche eine entsprechende Vergrößerung und Strukturveränderung erfahren haben. Nicht selten schnürt sich ein größerer Teil des Kernes ab, der sich bald zu einer solchen „Ölkugel" umwandelt. Es ist jedoch in beiden Fällen kein prinzipieller Unterschied zu erblicken, da auch die Nucleolen Kernderivate sind (Fig. 10). Die weitere Vergrößerung dieser Kugel erfolgt dadurch, daß die übrigen Nucleolen nach und nach ihre Struktur verändern und mit ihr verschmelzen. — Im Gegensatz zu *Collosphaera* ist bei dieser Art Zweiteilung der Schizonten

in diesem Stadium kaum zu beobachten; sie kommt wohl nur ausnahmsweise vor. Das „Algenstadium“ des Schizonten kommt in verschiedenen Größen vor: gewöhnlich messen sie 5—20 μ im Durchmesser; in seltenen Fällen habe ich auch Individuen von 26 μ Durchmesser beobachtet.

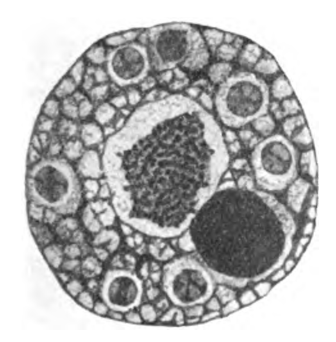


Fig. 9.



Fig. 10.

Fig. 9. *Collozoum inerme.* Algenstadium. Vergr. 2250:1.

Fig. 10. *Collozoum inerme.* Algenstadium, jünger als das vorhergehende, mit sich vom Kern abschnürenden Nucleolen. Vergr. 2250:1.

Die Umwandlung dieses Stadiums in das erwachsene vielkernige Individuum erfolgt äußerst schnell; daher sind die betreffenden Übergangsstadien selten zu beobachten. Es treten im Plasma des Schizonten zahlreiche größere Vacuolen auf, wodurch sich vielleicht das schnelle Wachstum der Schizonten erklären läßt. Gleichzeitig rückt das im Plasma verteilte spongiöse Gerüst zum Kern hin und vereinigt sich mit ihm, wodurch er eine beträchtliche Größe erlangt. Durch die Vereinigung der einzelnen Nucleolen mit der „Ölkugel“ nimmt letztere ebenfalls stark an Größe zu. Wie wir vorhin erwähnten, können sich die Nucleolen noch in dem vorhergehenden Stadium („Algenstadium“) in Ölkugeln verwandeln, ohne dabei miteinander zu verschmelzen. Dementsprechend sieht man in einem bereits umgewandelten Individuum nicht selten mehrere „Ölkugeln“, welche erst bedeutend später, nachdem das Tier vielkernig geworden ist, zu einer einzigen Ölkugel miteinander verschmelzen.

Nachdem auf die vorstehend geschilderte Weise der Kern zu beträchtlicher Größe herangewachsen ist, zerfällt er auf einmal in viele Tochterkerne, indem er eine größere Anzahl Auswüchse nach verschiedenen Richtungen aussendet, die sich bald loslösen (Fig. 11). Die neu entstandenen Tochterkerne vermehren sich durch Zweiteilung, wodurch eine sehr große Anzahl von Kernen entsteht, die, in

ihrer Mitte die Ölkugel einschließend, das ganze Individuum erfüllen (Fig. 12). Obwohl die Teilung dieser Kerne auf den ersten Blick auf direkte Weise zu verlaufen scheint, stellt sie sich bei genauerer Untersuchung als eine Art Mitose heraus. Ein in der Teilung weit

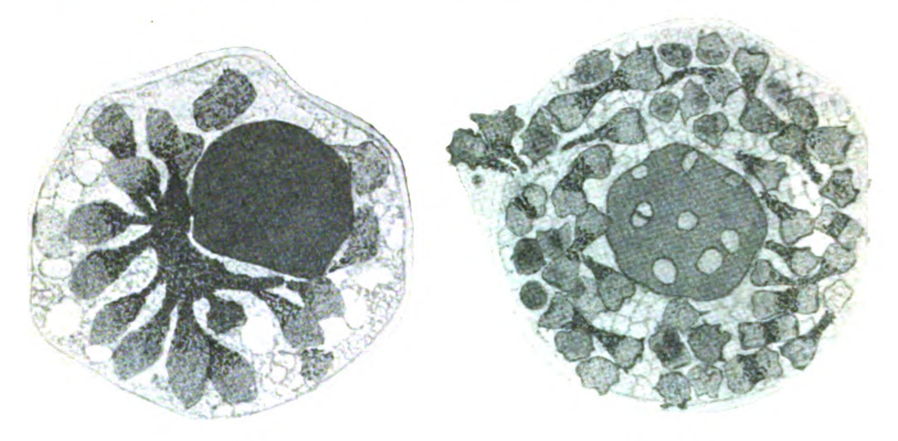


Fig. 11. Fig. 12.

Fig. 11. *Collozoum inerme.* Erwachsenes Individuum mit sich teilendem Kern und großer „Ölkugel". Vergr. 1500 : 1.

Fig. 12. *Collozoum inerme.* Erwachsenes Individuum mit vielen sich teilenden Kernen und centraler „Ölkugel". Vergr. 1500 : 1.

vorgeschrittener Kern hat die Form eines Hantels. An gut differenzierten Präparaten und mit starker Vergrößerung sieht man jedoch, daß das Chromatin nicht überall gleichmäßig in ihm verteilt ist, sondern es nimmt vielmehr die innere Kernhälfte sowie die Verbindungsbrücke ein (Fig. 13). Die kolbenähnlich angeschwollenen Enden des sich teilenden Kernes sind hingegen chromatinfrei. Sie weisen eine homogene Struktur auf. Man gewinnt den Eindruck, daß diese homogene Masse die Grundlage des ganzen Kernes darstellt und daß das Chromatin in ihr eingestreut ist. Es läßt sich mit Sicherheit behaupten, daß die Differenzierung dieser zwei verschiedenen Substanzen nicht im Laufe der Kernteilungen erfolgt, sondern von Anfang an zweierlei Ursprungs zu sein scheint. Ich habe vorhin erwähnt, daß bei der Umwandlung der „gelben Zellen" in den erwachsenen Zustand das im Plasma vorhandene spongiöse Gerüst sich mit dem idiochromatischen Kern vereinigt, wodurch er eine ansehnliche Größe bekommt. Die homogene Partie des sich teilenden Kernes führen wir eben auf dieses Gerüst, und die in ihm eingestreuten Chromatinkörnchen auf den idiochromatischen

Kern zurück. Der herangewachsene Kern und seine Abkömmlinge verhalten sich dem übrigen Plasma des Individuums gegenüber ganz selbständig. Offenbar beziehen sie nur die zu ihrem Wachstum nötige Nahrung von ihm; am Ende ihrer Vermehrung kriechen sie allein heraus, ohne auch nur den geringsten Teil vom Plasma des mütterlichen Individuums mitzunehmen. Es scheint, daß die Kernteilung von einer hyalinen Sphäre geleitet wird, welche in Form eines ganz niederen Kegels an der äußersten Seite der Kernoberfläche sich befindet und sich mit ihrer Basis wie in einer Grube in den Kern versenkt (Fig. 13).

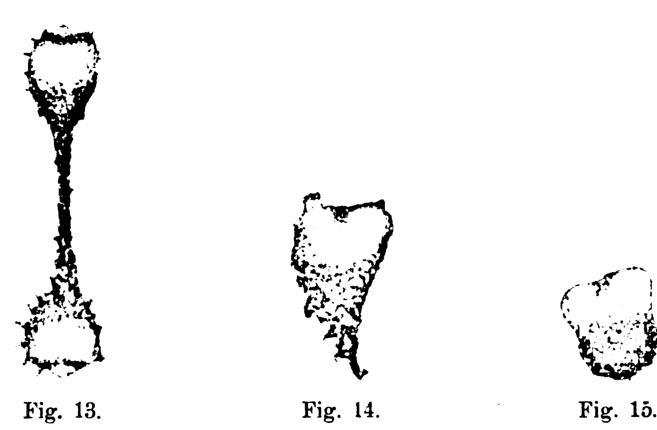


Fig. 13. Fig. 14. Fig. 15.

Fig. 13. *Collozoum inerme.* Sich teilender Kern stärker vergrößert. Verg. 2500 : 1.
Fig. 14. *Collozoum inerme.* Kern nach erfolgter Teilung mit Schwänzchen. Vergr. 2500 : 1.
Fig. 15. *Collozoum inerme.* Merozoit nach Einziehung des Schwänzchens. Vergr. 2250 : 1.

Die Vermehrung der Tochterkerne hört nicht bei allen gleichmäßig auf, so daß noch einzelne Kerne (Merozoiten) zu einer Zeit auswandern, wo die übrigen sich noch in Teilung befinden.

Nach der Gestalt der ausschwärmenden Merozoiten zu schließen, vollziehen sie amöboide Bewegungen. Unmittelbar nach der Teilung wandern gewöhnlich die Kerne mit der Teilungssphäre voran aus; erst nach und nach ziehen sie den chromatischen Schwanz ein (Fig. 14), wodurch ein deutlicher Kern entsteht, der zuerst eine exzentrische Lage im Merozoiten aufweist (Fig. 15). Die Umwandlung der Merozoiten in Schizonten, d. h. in gelbe Zellen, erfolgt wie es scheint äußerst rasch, da man die Übergangsstadien nicht leicht auffindet. Außerdem büßen die Kerne und das Plasma wie bei den vorhergehenden Gattungen sehr stark ihre Färbbarkeit ein, wodurch

noch mehr die Auffindung der Merozoiten erschwert wird. Auch hier gibt der Kern einen Teil seines Chromatins an das Plasma ab, aus welchem das Gerüst und die Nucleolen im Plasma entstehen (Fig. 16 u. 17).

Von der „Ölkugel“ der erwachsenen Individuen möchte ich bemerken, daß sie sich in den meisten Fällen mit manchen chromatischen Farbstoffen färbt. In Terpentinöl ist sie nicht löslich. Ich glaube daher nicht, daß sie aus Öl besteht, obwohl sie in den lebenden Kolonien einen fettähnlichen Glanz aufweist.




Fig. 16.

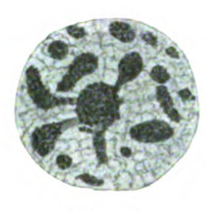


Fig. 17.



Fig. 18.

Fig. 16. *Collozoum inerme.* Merozoit, sich in Schizonten umwandelnd. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 17. *Collozoum inerme.* Merozoit, sich in Schizonten umwandelnd. Etwas älteres Stadium. Chromatische Zellfortsätze vom Kern zur Peripherie. Vergr. 2250 : 1.

Fig. 18. *Collozoum inerme.* Merozoit mit chromatischen Zellfortsätzen vom centralen Kern nach der Peripherie. Vergr. 2250 : 1.

Während des Zooxanthellastadiums der Schizonten aller von mir untersuchten Arten ist außer dem wohl differenzierten Kern, den wir als idiochromatischen Kern ansehen, noch ein spongiöses Gerüst im Plasma vorhanden, das mehr oder minder stark entwickelt sein kann. In diesem Gerüst sind die mehrfach erwähnten Nucleolen verteilt, deren Zahl weitgehende Schwankungen aufweist. Das spongiöse Gerüst mit den Nucleolen möchte ich dem idiochromatischen Kern gegenüberstellen und als einen trophischen Kern ansehen. Auf Grund der Untersuchung des lebenden Materials glaube ich das spongiöse Gerüst als Farbstoffträger ansehen zu können, wodurch die ziemlich gleichmäßige Färbung der Schizonten hervorgerufen wird. Es kann vielleicht als ein Chromatophor angesehen werden, der eine sehr starke Verästelung erfuhr. Allerdings habe ich auch solche Schizonten beobachtet, bei denen die Färbung mehr an geformte kugelige Gebilde — offenbar die Nucleolen — gebunden war. Ein prinzipieller Unterschied zwischen spongiösem Gerüst und den Nucleolen dürfte kaum existieren. Beide

verdanken ihre Entstehung dem idiochromatischen Kern und dürften ähnliche physiologische Funktionen verrichten.

Nach der vorstehenden Darstellung erfolgt bei den koloniebildenden Radiolarien die vegetative Vermehrung in der Weise, daß die sog. „gelben Zellen" in das vielkernige Stadium übergehen, indem der Kern heranwächst und simultan in viele Tochterkerne zerfällt, welche sich ihrerseits weiter teilen. Die auf diese Weise entstandenen Merozoiten wandern amöboid gegen die Oberfläche der Kolonie, wandeln sich in der Gallerte in Schizonten (gelbe Zellen) um und so kann sich diese Vermehrungsart viele Male wiederholen, bis die geschlechtliche Differenzierung eintritt und die verschiedenen Sporen gebildet werden, welche untereinander copulieren. Eine Zweiteilung der erwachsenen vielkernigen Individuen habe ich mit Sicherheit nicht beobachtet. Sie scheint keine regelmäßige Erscheinung zu sein und, wenn überhaupt, nur ausnahmsweise vorzukommen.

Nach der geschilderten Vermehrungsweise ist es nun leicht, die verschiedene Gestaltung, welche die Kolonien gewöhnlich aufweisen, zu erklären.

Die jungen Kolonien weisen gewöhnlich keinen leeren Raum in ihrer Mitte auf, sondern sind von homogener Gallerte erfüllt. Die jungen amöboiden Merozoiten rücken gewöhnlich in die Nähe der Oberfläche, wo sie heranwachsen. Die erwachsenen Individuen sind gleichmäßig verteilt. Wenn sich nun während der vegetativen Tätigkeit die Schizogonie mehrere Male wiederholt, so bildet sich an der Stelle der ausgeschwärmten Individuen ein Hohlraum, welcher immer größer wird. Dadurch entstehen die blasenförmigen Kolonien; durch mechanische Ursachen zerreißen dieselben, wodurch scheiben- oder bandförmige Kolonien entstehen.

III. Allgemeiner Teil.

Ich will nun ganz kurz die Frage der Zugehörigkeit der gelben Zellen zum Organismus der Radiolarien besprechen, indem ich zunächst die Literaturangaben streife, dann die Gründe erörtere, die seitens der Autoren zugunsten der Algennatur der Zooxanthellen beigebracht wurden, schließlich jene Gründe anführe, die mich zur Annahme veranlassen, daß die gelben Zellen Jugendstadien der Nester, also Teile des Radiolars selbst sind.

Die Literatur über die gelben Zellen ist übersichtlich von BRANDT (2 u. 3), OLTMANNS (15) und WINTER (17) zusammengestellt worden, weshalb ich mich hier auf die Hervorhebung des Wichtigsten beschränken kann.

Die älteren Autoren MÜLLER (14), HAECKEL (10) und STUART (16) fassen die gelben Zellen als integrierende Bestandteile des Radiolarienorganismus auf. HAECKEL (10) deutet sie als Aufstapelungsorte gewisser Nahrungsstoffe (Assimilate). STUART (16) scheint sogar die Entstehung der gelben Zellen „in besonderen Bildungszellen des inneren Protoplasmas“ beobachtet zu haben. CIENKOWSKY (5) war der erste, der die gelben Zellen als Fremdkörper ansprach, indem er darauf hinwies, daß „bei *Collozoum* die gelben Zellen freudig fortfuhren zu wachsen, auch dann, wenn das Protoplasma und die Kapseln der Kolonie völlig zerstört waren, daß die befreite Zelle lappige Gestalt bekam und sich schließlich durch Teilung vermehrte“. Jedoch gibt er zu, daß die Eigenschaft der gelben Zellen, nach dem Tode der zugehörigen Radiolarienkolonie zu wachsen und sich fortzuflanzen, ferner der Nachweis von Stärke die pflanzliche Natur der gelben Zellen noch nicht entscheide. Er konnte „keine einzige Tatsache auffinden, die unzweifelhaft die direkte Entstehung der gelben Zellen aus dem Protoplasma der Radiolarien bewiese“.

R. HERTWIG (11) trat dieser Ansicht sehr entschieden entgegen, weil er Neubildung gelber Zellen im Organismus des Radiolars beobachten konnte. „Wenigstens machen es mir eine Anzahl Beobachtungen wahrscheinlich, daß gelbe Zellen sich auch unabhängig von bestehenden Zellen entwickeln können, indem im Pseudopodiennetze sich um Kerne, die wir dann von den in der Centralkapsel enthaltenen abzuleiten hätten, gelbes Pigment ansammelt und das Ganze sich schließlich mit einer Membran umgibt.“ Ferner beobachtete R. HERTWIG den Zerfall der gelben Zellen bei Schwärmerbildung, also eine direkte Anteilnahme derselben an der Entwicklung des Radiolars, und erblickt darin einen schwerwiegenden Beweis für die Zugehörigkeit der Zooxanthellen zum Radiolarienorganismus.

In seinem großen Werke „Der Organismus der Radiolarien“ verhält sich HERTWIG (12) gegenüber der Frage der Zugehörigkeit der gelben Zellen zum Radiolarienorganismus unentschiedener, ja er führt sogar zwei Argumente für deren parasitische Natur an. Das eine geht dahin, daß er gelbe Zellen bei Thalassicollen fand, die nur einen einzigen Kern besitzen, ferner daß ihre Verbreitung eine beschränkte ist, indem die gelben Zellen bei vielen Radiolarien fehlen. Auf beides komme ich später noch zurück.

O. u. R. HERTWIG wiesen dann das Vorkommen ganz ähnlicher gelber Zellen bei Actinien, MOSELEY bei Foraminiferen, CHUN bei Ctenophoren usw. nach und erklärten sie für eingedrungene parasitische Algen, indem sie dasselbe für die Zooxanthellen der Radiolarien folgerten.

BRANDT (2 u. 3) führt in seinen Arbeiten zahlreiche Gründe an, die für die parasitäre Natur der gelben Zellen sprechen. Zunächst, daß die gelben Zellen bei Zerfall der Kolonie dieselbe überleben, daß sich aus der Lagerung der Zooxanthellen ein Eindringen von außen nach innen schließen lasse, daß eine Cellulosemembran vorhanden ist, daß die Kerne der gelben Zellen sich färberisch anders verhalten als die Kerne der Radiolarien, daß Assimilate vorkommen.

GEDDES (8) erbrachte den Nachweis, daß der Farbstoff der gelben Zellen Chlorophyll sei, schließt sich im übrigen der Meinung BRANDT's an, daß die gelben Zellen parasitische Algen seien.

GEZA ENTZ (6) stellte fest, daß unter der Bezeichnung Zooxanthella (BRANDT) oder Philozoon (GEDDES) nicht eine besondere einzellige Algenart, sondern ganz verschiedene Algen zu verstehen seien, und spricht sich gleichfalls für die pflanzliche Natur der gelben Zellen aus.

Die Zusammenfassungen von BÜTSCHLI (4), WINTER (17), FÜRTH (7), OLTMANNS (15) haben neue Tatsachen nicht beigebracht.

Die jetzt herrschende Meinung über die Beziehung der gelben Zellen zum Radiolarienorganismus geht also dahin, daß die gelben Zellen keine Bestandteile des Radiolars, sondern einzellige Algen sind, die auch in anderen Meerestieren leben. Im Gegensatz dazu habe ich im speziellen Teil zu zeigen versucht, daß die gelben Zellen Jugendstadien der erwachsenen Individuen darstellen, also in den Entwicklungskreis des Radiolars gehören.

Ich will nun die Gründe diskutieren, die seitens der Autoren zugunsten der Algennatur der gelben Zellen beigebracht werden.

Als einer der Hauptbeweise für die pflanzliche Natur der gelben Zellen wird das Vorhandensein von Chlorophyll und Assimilaten in denselben angeführt. ENTZ, BRANDT, SEMPER, GREEFF, HAMANN und viele andere Forscher stehen auf dem Standpunkte, daß den Tieren die Fähigkeit, Chlorophyll zu bilden, fehlt und daß, wo solches vorhanden ist, dasselbe einzelligen Algen sein Dasein verdankt. Dagegen betonten RAY-LANKESTER, ENGELMANN, GEDDES, SALLIT, BECQUEREL u. a. m., daß die Chlorophyllkörper dem Tierorganismus eigentümliche Bildungen sind. Nun hat aber in neuester Zeit NENCKI

den Nachweis der nahen Verwandtschaft des Chlorophylls mit dem Hämoglobin erbracht. Es hat also das Auftreten einer chlorophyllähnlichen Substanz im Tierkörper nichts Befremdendes mehr. In den von Dr. MOROFF und mir betriebenen Studien über Bau und Fortpflanzung der Acanthometriden (13) haben wir den Nachweis erbracht, daß die in den Centralkapseln enthaltenen gelben Zellen nicht als Fremdkörper, sondern als der Radiolarienkolonie zugehörige Gebilde, als trophische Kerne anzusehen sind. Nun hat BRANDT (2) durch das ENGELMANN'sche Verfahren mittels Bacterien an den gelben Zellen der Acanthometriden nachgewiesen, daß sie unter dem Einflusse des Lichtes Sauerstoff ausscheiden, daß also der gelbe Farbstoff Chlorophyll sein müsse. Es liegt also hier unzweifelhaft ein Fall vor, wo Chlorophyll vom Tiere selbst gebildet wird. GEDDES hat gezeigt, daß der Farbstoff der gelben Zellen der Sphärozoen Chlorophyll sei. Mit dem Nachweis von Chlorophyll ist die Anwesenheit von Assimilaten in den Zooxanthellen ohne weiteres erklärt. Solche wurden auch von HAECKEL (10) für die gelben Zellen der Sphärozoen nachgewiesen.

Ein schwerwiegender Einwand gegen die Zugehörigkeit der gelben Zellen zum Radiolarienorganismus bildet nach CIENKOWSKI (8) die Tatsache, daß die gelben Zellen den Tod des Radiolars lange überleben, daß sie wachsen und sich durch Teilung vermehren, auch wenn das ganze Tier abgestorben und die Centralkapsel sowie das umgebende Protoplasma völlig zerstört war. HERTWIG hat diesen Einwand mit Recht damit zurückgewiesen, daß auch bei höheren Organismen einzelne Teile große Selbständigkeit bewahren und eine Zeitlang den Tod des ganzen Organismus überleben. Infolge der reichlichen Ausbildung der Assimilate sind die gelben Zellen eben in der Lage, viel länger auszudauern als die Nester, die Kolonie ist also noch lange nicht tot, wenn auch die Nester schon aufgelöst sind. Das Wachstum der gelben Zellen hat in ihrer ausgiebigen assimilatorischen Tätigkeit eine entsprechende Erklärung. Schwieriger ist das Teilungsvermögen und die amöboide Beweglichkeit der gelben Zellen zu erklären. Ich glaube, daß hier ganz spezielle Anpassungserscheinungen an das Leben in der Gallerte vorliegen, indem die gelben Zellen während ihres Wachstums allmählich eine gewisse Selbständigkeit gegenüber den Nestern erlangen, von denen sie sich abgeschnürt haben. Der weitere Einwand CIENKOWSKI's, daß keine einzige Tatsache dafür spräche, daß die gelben Zellen im Radiolarienkörper selbst gebildet würden, ist bereits von R. HERTWIG widerlegt worden, indem er es für wahrscheinlich erklärte, daß gelbe

Zellen sich auch unabhängig von bestehenden Zellen entwickeln können, mit anderen Worten, daß um Kerne, die wahrscheinlich der Centralkapsel entstammen, gelbe Zellen neu entstehen können, indem sich um Kerne gelbes Pigment ansammelt und das Ganze sich mit einer Membran umgibt. HERTWIG hat also Entwicklungsstadien der gelben Zellen gesehen.

Die Auffindung gelber Zellen bei Thalassicollen mit einfachem ungeteilten Nucleolus ist ein Argument, das von R. HERTWIG (12) zugunsten der CIENKOWSKI'schen Auffassung (5) beigebracht wird. Wenn die gelben Zellen zum Tiere gehören, so müßte man annehmen, daß sie selbständig und unabhängig vom Binnenbläschen in der extracapsularen Sarcode entstanden sind. Ich habe Gelegenheit gehabt, die gelben Zellen in Thalassicollen zu studieren und habe ihre vollständige Übereinstimmung mit jenen der Sphärozoen konstatieren können. Ich bin zur Anschauung gelangt, daß die gelben Zellen hier gar nicht vom Kerne entstanden sein müssen, vielmehr dürften hier vielfach symbiontische eingewanderte fremde Radiolarien im Zooxanthellenstadium vorliegen. Bekanntlich treten uns die gelben Zellen in zwei Formen entgegen: in Form beweglicher Stadien als flagellatenähnliche Organismen und im Dauerstadium als Palmellen. Die flagellaten- oder braunalgenähnlichen Stadien schwimmen allenthalben im Wasser umher, und so kann die Einwanderung derselben in irgendeine pelagische oder benthonische Tierform leichterdings erfolgen, worauf sie dann ein Ruhestadium einnehmen, ihre Geißeln abwerfen und eine Membran ausbilden. Wir stellen uns also vor, daß junge Sphärozoenschwärmer in die Thalassicollen eingedrungen sind und dort symbiontisch in der Gallerte eine Zeitlang weiterleben, bis sie wieder ausschwärmen. Es scheint mir gar nicht ausgeschlossen und ich möchte dies als eine vorläufige Arbeitshypothese hinstellen, daß die in vielen benthonischen Tieren vorkommenden gelben Zellen zum Teil auch Palmellenstadien von Radiolarien darstellen. Vielleicht überwintern oder übersommern die jungen Radiolarien im Palmellenstadium im Gewebe irgendeines fremden Wirtes, einer Actinie z. B., und schwärmen nach Ablauf der für sie ungünstigen Periode als Flagellaten aus, um sich dann weiter zum ausgebildeten Tier zu entwickeln. Auf diese Weise wäre eine Erklärung für das bisher noch ganz rätselhafte regelmäßige und massenhafte Auftreten gewisser Radiolarienformen im Golfe von Triest ausschließlich im Winter (*Sticholonche*) oder im Sommer (*Acanthometron*) gegeben, das anscheinend unabhängig von Strömungen erfolgt. Die Beschränktheit der Verbreitung der gelben

Zellen, die bei vielen Radiolarien (bei Disciden, Heliosphären, Thalassolampe) fehlen, bei nahe verwandten Formen aber vorkommen, ist nach meiner Ansicht kein Beweis für die Algennatur der gelben Zellen. In gewissen Entwicklungsstadien müssen ja die gelben Zellen fehlen. Leider ist die Entwicklung gerade dieser Formen noch viel zu wenig bekannt. — Man kann bei Vergleich verschiedener Kolonien von einer Sphärozoenspecies, z. B. *Collozoum inerme*, sehen, daß die eine mehr, die andere weniger gelbe Zellen, manche gar keine gelben Zellen enthält. Die relative Menge der Zooxanthellen für die Systematik der Sphärozoen zu verwerten, wie dies seitens BRANDT's (3) geschieht, erscheint mir vollständig unzulässig.

Wenn BRANDT (3) entgegen der Angabe HERTWIG's (11) behauptet, daß die gelben Zellen von der Schwärmerbildung gar nicht betroffen werden und ganz unverändert in der Gallerte zurückbleiben, so beweist das noch nicht, daß die Zooxanthellen fremde Gebilde sind, die in den Organismus des Radiolars eingedrungen sind. Es läßt sich dies ganz einfach durch ihre große Selbständigkeit und Unabhängigkeit von den mütterlichen Nestern erklären, welche die Jugendformen durch den reichlichen Besitz von Assimilaten erlangt haben.

Das Vorhandensein einer Cellulosemembran bei den gelben Zellen ist, wie BRANDT (2) in einer Fußnote zugeben muß, auch kein zwingender Beweis für die pflanzliche Natur derselben, da ja Cellulose bei vielen Cilioflagellaten und auch im Mantel der Tunicaten nachgewiesen ist.

Was das färberische Verhalten der Kerne der gelben Zellen betrifft, so muß ich der Behauptung BRANDT's (2), daß sie sich diesbezüglich anders verhalten als die Kerne der Radiolarien, entschieden widersprechen. Die Kerne der gelben Zellen sind färberisch ganz gleich denen der Radiolarien. Ich habe dies mittels Färbungen durch Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN, Safranin, Gentianviolet, nach dem BENDA'schen Verfahren usw. nachgeprüft. Endlich läßt sich die von BRANDT (2) ausführlich geschilderte Einwanderung von gelben Zellen auch im Sinne einer Auswanderung von Zooxanthellen von den Nestern deuten. Bei Vergleich einer großen Anzahl von Kolonien mit 50—100 Centralkapseln fanden sich nach BRANDT solche, die keine gelben Zellen enthielten, solche, die vereinzelte im äußeren Teile der Gallerte liegende gelbe Zellen hatten und solche mit einer großen Anzahl gelber Zellen im Pseudopodenmutterboden. Aus dieser Anordnung schließt BRANDT, daß die

gelben Zellen von außen einwandern. Wenn die gelben Zellen durch Knospung aus den Nestern entstehen oder sich aus ausgewanderten Kernen entwickeln, so erfährt die ganz wichtige Beobachtung die umgekehrte Deutung. Zuerst treten die Schizonten naturgemäß in der Nähe der Nester auf, aus denen sie stammen, dann entfernen sie sich mit fortschreitender Entwicklung von den Nestern nach allen Seiten und finden sich schließlich in den äußeren Partien der Gallerte.

Ich gelange nunmehr zur Besprechung jener Tatsachen, die für die Zugehörigkeit der gelben Zellen zum Radiolarienorganismus sprechen.

Betrachten wir eine Sphärozoenkolonie, so finden wir in der Gallerte in der Regel viele Nester und überall verstreut gelbe Zellen. Es fällt auf, daß man nirgends junge Nester sieht, sondern stets alle Nester in ziemlich gleicher Ausbildung, im erwachsenen Zustande, während die gelben Zellen in allen möglichen Größen vorhanden sind. Lassen wir einmal die vorgefaßte Meinung fallen, daß die gelben Zellen symbiontische Algen sind, und betrachten die Sphärozoenkolonien unbefangen, so drängt sich förmlich der Gedanke auf, daß eben die gelben Zellen die gesuchten Jugendstadien der Nester sein müssen. Bei einem Vergleich beider Elemente finden wir nämlich eine geradezu auffallende Ähnlichkeit: beide enthalten als Bestandteile Öltropfen und Kern. Der Hauptunterschied besteht, wenn wir von der Farbe absehen — der Größe nach finden sich alle Übergänge der Wachstumsstadien der gelben Zellen vom Kern bis zur Größe eines Nestes — nur darin, daß in dem einen Falle ein Kern, im anderen Falle mehrere Kerne vorhanden sind. Der „Öltropfen“ ist in beiden Fällen gleich. Große gelbe Zellen sind sehr oft ganz schwach gelb gefärbt und stark verblaßt. Ich muß allerdings zugeben, daß es mir nicht gelungen ist, gerade jene Übergangsstadien in der Entwicklung der Schizonten zu den Nestern zu finden. Stellen wir uns aber vor, daß der in Fig. 11 dargestellte, bereits gelappte Kern neben dem Öltropfen noch seine ursprüngliche rundliche Form beibehalten hat, wie dies in einem etwas jüngeren Stadium zweifellos der Fall ist, so hätten wir eines der fehlenden Übergangsstadien, ein Nest, vor uns, das genau denselben Bau wie die gelbe Zelle zeigt: ein Öltropfen und ein Kern. Es wäre zu sonderbar, wenn diese weitgehende Ähnlichkeit zwischen gelben Zellen und Nestern ein bloßer Zufall sein sollte.

Wird schon durch die Übereinstimmung im Bau die innere Verwandtschaft der gelben Zellen mit den Nestern nahegelegt, so sprechen einige weitere Tatsachen im gleichen Sinne.

Das Wachstum der Kolonien soll nach HAECKEL (10), CIEN-

KOWSKI (5), HERTWIG (11) und BRANDT (3) lediglich durch Teilung der vorhandenen Centralkapseln erfolgen. Man sieht gelegentlich ovale biskuitförmige Nester, von letzteren solche mit 2 Öltropfen und solche, wo 1 Öltropfen vorhanden ist, aber an den erweiterten Enden je ein eigener Kernhaufen lagert. Auf Grund meiner Beobachtungen kann ich der Teilung nicht jene Rolle bei der Vermehrung der Nester in einer Kolonie zuschreiben, wie dies seitens der Autoren geschieht.

Von keinem Autor ist der Teilungsvorgang selbst beobachtet worden. Ich habe reichliches Material aus den verschiedensten Jahreszeiten und von verschiedenen Fundorten gesehen und nur in ganz vereinzelten Fällen biskuitförmig eingeschnürte Individuen beobachtet. Wäre die Teilung die normale Vermehrungsweise der Nester, so müßten viel häufiger sich zur Teilung anschickende Nester zu sehen sein, als dies in Wirklichkeit der Fall ist. Ich möchte also meine Meinung dahin aussprechen, daß Teilung der Nester zweifellos stattfindet, doch kann diese Vermehrungsart nicht die einzige sein, durch welche die Zahl der Nester in den Kolonien zunimmt.

BRANDT (3) behauptet, daß der Teilungsprozeß sich bei den Sphärozoennestern sehr langsam vollzieht. Es würde da das relativ kurze Alter einer Sphärozoenkolonie nicht ausreichen, um auf diesem Wege die große Anzahl von Nestern zu erzeugen.

Es muß daher noch einen anderen Vermehrungsmodus der Nester geben. Dies hat auch BRANDT eingesehen. Er sagt, daß die in der Gallerte häufig vorkommenden extracapsularen Körper sich in vielen Fällen zu Nestern umbilden, daß mit anderen Worten die Schwärmeranlagen nicht zu freien Schwärmern, sondern zu Nestern werden. — Die extracapsularen Körper sind nach BRANDT Bildungen, die durch Knospung aus den Nestern jugendlicher Entwicklungsstadien hervorgehen, stets einen differenzierten Kern und ein Fetträubchen enthalten und ein stark glänzendes körnchenfreies Plasma besitzen, haben also ein ganz anderes Aussehen als die gelben Zellen. Die Angaben CIENKOWSKI's (5), HERTWIG's (11), BRANDT's (3), HARTMANN's u. HAMMER's (9) über Entstehung und Schicksal der extracapsularen Körper sind so unsicher, daß eine sorgfältige Nachprüfung auf Grund umfangreichen Materials dringend geboten erscheint. Ich will hier auf die Entstehung dieser rätselhaften Gebilde nicht näher eingehen und meiner Meinung nur dahin Ausdruck geben, daß seitens der Autoren manchmal Entwicklungsstadien der gelben Zellen mit den extracapsularen Körpern verwechselt wurden.

Es muß also außer der Teilung noch eine andere vegetative Vermehrungsart der Nester geben.

Ich habe im speziellen Teile zu zeigen versucht, daß die gelben Zellen (Schizonten) durch Knospung aus den Nestern hervorgehen, daß gelbe Zellen (Merozoiten und Schizonten) durch simultanen Zerfall der erwachsenen Individuen gebildet werden und daß schließlich die gelben Zellen durch Umwandlung einzelner aus den erwachsenen Individuen ausgewanderter Kerne entstehen. Die ersten beiden Entstehungsarten habe ich mit Sicherheit beobachtet. Für die Umwandlung einzelner Kerne in die Nester konnte ich eine lückenlose Reihe von Entwicklungsstadien nicht beibringen. Wahrscheinlich erfolgt dieselbe zu ganz bestimmten Zeiten und sehr rasch.

Diese dreifache Entstehungsweise der gelben Zellen erklärt auch das massenhafte Vorkommen derselben in verschiedenen Stadien der Entwicklung. Es findet sich eben „neben den großen Muttercentralkapseln eine zahllose Menge kleiner Tochtercentralkapseln“ (die gelben Zellen) ein Postulat, das seinerzeit von Hertwig (11, S. 39) aufgestellt wurde, als Cienkowski die Entstehung von Nestern aus den extracapsularen Körpern behauptete.

Als letztes Argument möchte ich schließlich die am Schlusse des speziellen Teils erörterte Entstehung der Form der Sphärozoenkolonien anführen, die unschwer zu erklären ist, sobald die gelben Zellen als Jugendstadien der Nester angesehen werden.

Zusammenfassung.

Außer durch Teilung findet das Wachstum der Sphärozoenkolonien statt:

1. durch Knospung aus den Nestern,
2. durch simultanen Zerfall der Nester,
3. durch Umwandlung von Kernen, die den Nestern entstammen, in gelbe Zellen.

Die gelben Zellen sind Jugendstadien der Nester.



Literaturverzeichnis.

Die nachfolgende Liste enthält nur jene Arbeiten, die für die Untersuchung unmittelbar in Betracht kamen. Ausführliche Literaturverzeichnisse sind in den Arbeiten von Brandt, Fürth, Bütschli und Winter gegeben.

1) Brandt, K. (1882): Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. Arch. Anat. Phys. Abt. 1882 p. 125—151.

2) — (1883): Über die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. 2. Arb. in: Mitt. Zool. Stat. Neapel Bd. 4 p. 191—302.

3) — (1885): Die koloniebildenden Radiolarien (Sphärozoen) des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte. Fauna und Flora des Golfes von Neapel Bd. 13 p. 65—71.

4) Bütschli, O. (1880—82): Radiolaria. Bronn's Kl. u. Ordn. I. Abt.: Sarkodina und Sporozoa. Bd. 1 p. 322—347.

5) Cienkowski, L. (1871): Über Schwärmerbildung bei Radiolarien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7 p. 371—381.

6) Entz, G. v. (1876): Über die Natur der Chlorophyllkörperchen niederer Tiere. Biol. Centralbl. Bd. 1 p. 646—650.

7) Fürth, O. (1903): Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. p. 493—506.

8) Geddes, O. v. (1882): On the nature and function of the yellow cells of Radiolarians and Coelenterates. Proc. Roy. soc. Edinburgh p. 377—396.

9) Hartmann, Max u. Ernst Hammer (1909): Untersuchungen über die Fortpflanzung von Radiolarien. in: Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin Nr. 4.

10) Haeckel, E. (1862): Die Radiolarien (Rhizopoda radiaria). Eine Monographie. 572 S.

11) Hertwig, R. (1876): Zur Histologie der Radiolarien. 86 S.

12) — (1879): Der Organismus der Radiolarien. Jena'sche Denkschr. II, 3. 149 S.

13) Moroff, Th. u. Stiasny, G. (1909): Über Bau und Entwicklung von Acanthometron pellucidum J. M. Arch. f. Protistenk. 27 S.

14) Müller, Johannes (1855): Über Sphaerozoum und Thalassicolla. Bericht über die zur Bekanntmachung geeigneten Verhandlungen der k. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin p. 229—253.

15) Oltmanns, F. (1905): Morphologie und Biologie der Algen. I. u. II. Teil.

16) Stuart, Alexander (1870): Neapolitanische Studien. in: Göttinger Nachr. p. 99—101.

17) Winter, F. W. (1907): Zur Kenntnis der Thelamophoren. Arch. f. Protistenk. Bd. 10 p. 57—81.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Amsterdam.
Vorstand: Prof. Dr. R. H. Saltet.)

Notiz über eine neue freilebende Amöbe *Amoeba Salteti n. sp.*

Von

Dr. **N. H. Swellengrebel,**
Privatdozent an der Universität.

(Hierzu Tafel V u. VI.)

Seit der erschöpfenden Arbeit Nägler's über die Amöben des Limaxtypus (1909) ist die Morphologie dieser Gebilde uns so eingehend bekannt, daß weitere Veröffentlichungen auf diesem Gebiete nur noch Bestätigungen bringen können. Ich würde auch meine diesbezüglichen Resultate nicht veröffentlichen, wenn nicht die Kernteilungsverhältnisse im Verband mit Nägler's Beobachtungen gewisses Interesse beanspruchen könnten. Auch bestätigt dieses Studium gewisse Äußerungen Hartmann's (1909) über freilebende Dysenterieamöben. Da die Literatur in verschiedenen neueren Arbeiten auf diesem Gebiete (u. a. in jener Nägler's) vollständig zitiert wurde, werde ich hier nur das allernotwendigste anführen, verweise übrigens nach den diesbezüglichen Sammelwerken.

Beobachtung in vivo.

Im lebenden Zustand besitzt unsere Amöbe ein körniges Cytoplasma mit vielen kleinen Vacuolen. Eine kontraktile Vacuole ist fast immer deutlich zu sehen, bisweilen sind deren zwei vorhanden.



In der Ruhe ist das Ectoplasma meistens unsichtbar, wird aber während der Bewegung deutlich. Die Pseudopodien sind länglich, zungenförmig, oft treten zwei an verschiedenen Stellen der Zelle hervor. Die Lage des Kernes ist unbestimmt, peripher oder central, er ist bläschenförmig mit großem deutlichen Caryosom, aber ohne deutlich hervortretende Membran. Das Caryosom zeigt keine feinere Struktur, nur kam bisweilen eine hellere, weniger lichtbrechende Stelle im Centrum zur Beobachtung. Der Kern ist offenbar von weicher Konsistenz und vollzieht nicht unerhebliche Formänderungen während des Transportes durch die Zelle. Die Amöbe zeigt gewisse Übereinstimmung mit *Amoeba Froschi* (Hartmann). Diese hat aber einen Durchschnitt von 8—12 μ, unsere Amöbe aber hat einen von 16—21 μ (Beobachtung lebender Exemplare) und 6—13 μ in fixierten Präparaten. Auch die Kernstruktur während der Teilung weicht nicht unerheblich von *Amoeba Froschi* ab, so daß ich glaube, daß eine Abtrennung von dieser Art geboten ist. Ich schlage für die hier vorliegende Art den Namen *Amoeba Salteti* vor.

Die Amöbe wurde aus Lemnamaterial aus einer Grube in der Nähe Amsterdams kultiviert auf Frosch's Kulturmedium, wie es neuerdings von Nägler wiederum angegeben wurde. Auf diesem Kulturboden wächst *Amoeba Salteti* gut, nicht so gut zwar, wie die von Frosch studierten Formen. Enzystierung tritt aber immer sehr schnell ein; man ist gezwungen jeden 2. oder 3. Tag überzuimpfen, um immer vegetative Formen zur Hand zu haben. Die frischen Cysten haben einen Durchmesser von ca. 8 μ und sind von einer hyalinen Pellicula umgeben. Letztere besteht aus zwei Schichten: eine dünnere, innere, stark lichtbrechende und eine äußere dickere, weniger lichtbrechende, die letztere hat zackige Umrisse. Die Pellicula färbt sich nur schlecht, so daß sie in Dauerpräparaten nicht deutlich ist, hat sich aber der Cysteninhalt kontrahiert, so wird die Pellicula deutlich sichtbar (Fig. 43). Es ist schwierig, den genauen Zeitraum festzustellen, den eine Zelle zur Enzystierung braucht. Der Prozeß setzt mit der Immobilisation der Zelle ein, letztere rundet sich ab und verliert die kontraktilen und anderen Vacuolen. Der Kern wird nach und nach kleiner, und stark lichtbrechende Granulationen treten im Plasma auf. Nach 24 Stunden ist in einer sich enzystierenden Kultur kaum noch eine vegetative Form zu finden, wir können folglich annehmen, daß der ganze Prozeß nicht mehr Zeit erheischt. Schon nach 24 Stunden können die Cysten ohne Schwierigkeit zur Keimung gebracht werden, wenn man sie auf frische Kulturmedien überträgt. Die stark lichtbrechende Cysten-

membran wird immer weniger deutlich, aber noch bevor sie gänzlich verschwindet, ist schon eine kontraktile Vacuole zu sehen. Zersprengung der Cystenhülle konnte ich nie beobachten, sie scheint einfach gelöst zu werden. Ich habe nicht genau festgestellt, wie lange die Cysten am Leben blieben. Bekanntlich konnte Frosch (1909) feststellen, daß sie noch nach 8 Jahren keimfähig sind. Die Cysten von *Amoeba Salteti* keimen, wenn sie im Medium, in welchem sie entstanden, belassen wurden, nach 9 Tagen ohne Schwierigkeit. Die meisten Cysten hatten nach 3—6 Stunden gekeimt. Nach 35 und 60 Tagen fand auch noch ziemlich reichlich Keimung statt, nahm aber mehr Zeit in Anspruch, ein größerer Teil der Cysten erwies sich als nicht mehr keimfähig und zerfiel, wenn Benetzung stattfand. Dieses Zerfallen täuscht oft eine Keimung vor, da das Plasma verquillt und die Pellicula zersprengt, was bei der wirklichen Keimung nicht geschieht. Es sei hier nebenbei bemerkt, daß der gleiche Keimungsmodus auch von Noc (1909) beschrieben wurde bei einer Amöbe aus dem Trinkwasser von Saigon. Ich werde Gelegenheit haben noch auf mehrere Übereinstimmungen zwischen *Amoeba Salteti* und Noc's Amöbe hinzuweisen.

Zweiteilung konnte ich im Leben nicht verfolgen, doch kommt sie, den gefärbten Präparaten nach, unzweifelhaft vor, wahrscheinlich erfolgt sie aber zu langsam. In einer sich lebhaft teilenden Kultur sah ich einmal eine multiple Teilung: mehrere Kerne waren vorhanden und eine Tochteramöbe war im Begriffe sich abzuspalten, war aber noch am Muttertiere verbunden (Fig. 50). Doch gehörte dieser Teilungsmodus in meinen Kulturen zu den Seltenheiten.

Die Größenverhältnisse der Amöben wechseln etwas nach dem Alter. Daß die sich multipel teilenden Formen größer sind als die normalen (cf. Fig. 1—3 mit Fig. 50) versteht sich. Die aus den Cysten hervorgegangenen Formen sind meistens etwas kleiner (Fig. 4), wachsen aber schnell heran, so daß nach etwa 8 Stunden diese kleineren Formen nicht mehr zur Beobachtung kommen. Bemerkt sei noch, daß die multiple Teilung wiederum ein übereinstimmendes Merkmal mit Noc's Amöbe bildet. Auch er beobachtete multiple „Knospung“, allerdings waren die Knospen kleiner und war der Vorgang mehr allgemein wie bei *Amoeba Salteti.*

Beobachtung fixierter und gefärbter Präparate.

Es sind zumal die Kernverhältnisse, die in fixierten und gefärbten Präparaten deutlicher hervortreten, für das Plasma könnte eine genaue Betrachtung in vivo schon genügen.

Zur Fixierung wurde das Amöbenmaterial aus der Kultur auf einem Deckgläschen in einem Tropfen verflüssigter Gelatine schnell fein verteilt, der Tropfen gleichmäßig ausgebreitet und sofort mit der Amöben-beschickten Seite nach unten auf die Fixierungsflüssigkeit geworfen. Die Gelatineschicht koagulierte dabei und verkittete die Amöben und deren Cysten fest an die Oberfläche des Deckgläschens, so daß man nachher selbst bei starkem Spülen kein Losreißen dieser Gebilde zu befürchten hatte.

Die Fixierung geschah vorwiegend in Schaudinn's Sublimat-Alkoholgemisch, die Färbung nach Heidenhain. Sowohl die Beizung wie die Färbung soll ziemlich lange (24 resp. 48 St.) dauern, damit nachher eine scharfe Differenzierung zu erzielen ist.

In ruhendem Zustande sieht der Kern im allgemeinen aus wie auf Fig. 5. Eine deutliche Kernmembran ist zwar nur in einem Teile der Fälle zu sehen. Oft sieht es aus, als ob das Caryosom der einzige Kern ist und nur von einer hellen Zone umgeben ist. Die Beobachtung in vivo und auch Befunde wie Fig. 5 in Verbindung mit den Beschreibungen Vahlkampf's (1905) und Nägler's zeigen aber, daß dieser hellere Hof wirklich dem Kerne angehört. Außerhalb des Caryosoms ist meistens kein oder doch nur sehr wenig Chromatin zu finden, selten sieht man (wie in Fig. 5) innerhalb der Membran einen grauen Schatten, welcher vielleicht eine Andeutung des Chromatins des Außenkerns ist, sonst hat sich das Chromatin gänzlich auf das Caryosom konzentriert.

Das ruhende Caryosom hat eine konstante äußere Gestalt. Von cyclischem Auf- und Abbau wie bei *Entam. tetragena* (Hartmann 1908) war nichts zu sehen: es wäre dabei Chromatin in den Außenkern übergetreten, was eben hier nicht vorkommt. So konstant die äußere Gestalt ist, so wechselnd ist der innere Aufbau. Fig. 16—29 geben von diesen Strukturänderungen ein Bild. Als Grundtypus soll vielleicht Fig. 16 u. 19 gedeutet werden. Es ist ein centrales Korn, wahrscheinlich das Centriol vorhanden. Von ihm aus gehen einige (4—5) Plastinstreifen bis zur Peripherie des Caryosoms. Da finden sich Chromatinmassen in der Form deutlicher Körnchen (Fig. 19) oder eines unterbrochenen Chromatinmantels (Fig. 16). In Fig. 20 u. 22 scheint das centrioläre Chromatin nach der Peripherie hin zu fließen, auf Fig. 17 ist die Stelle des Centriols schon leer. Auf Fig. 18, 21, 23—29 ist nur peripheres Chromatin vorhanden. Das Centriol ist folglich bei *Amoeba Salteti* kein konstantes Gebilde. Dieser Befund steht auch im Einklang mit den Beobachtungen der Kernteilung.

Die vollständige Emanzipation des Caryosoms vom Außenkerne äußert sich auch in der Kernteilung. Sie verläuft bei den beiden Komponenten viel weniger synchronisch, wie wir das sonst gewohnt sind. Bei VALKLKAMPF und NÄGLER's Amöben sehen wir ja, daß der ganze Kern sich noch vor der vollständigen Durchschnürung des Caryosoms zu verlängern und durchzuschnüren anfängt, so daß die bekannten Figuren entstehen, in welchen das hantelförmig durchgeschnürte Caryosom den Kern „zerstemmt“. Etwas derartiges ist bei *Amoeba Salteti* nicht zu sehen. Zwar vergrößert sich der Außenkern, aber das Caryosom kann schon vollständig geteilt sein, bevor der erstere irgendwelche Zeichen einer Verlängerung oder Durchschnürung gibt (Fig. 13). Diese erfolgt dann ziemlich plötzlich, so daß Übergangsstadien schwierig aufzufinden sind (Fig. 14, 15).

Während der Teilung des Caryosoms ist noch folgendes zu beobachten: das Caryosom wächst zunächst heran und es tritt in ihm eine deutliche Sonderung chromatischer und achromatischer Substanz auf. Erstere ordnet sich halterförmig an, indem die letztere noch keine Einschnürung zeigt (Fig. 6). Im chromatischen Teile sind öfters feinere Strukturen zu beobachten, eine dunkel färbbare Centralfibrille hält die beiden Polkappen noch zusammen; auch später, wenn die Hantelfigur schon verschwunden und die Polkappen nur noch durch eine schlecht färbbare Fibrille verbunden sind, findet man in den ersteren bisweilen sehr deutlich eine central isolierte, oft stark färbbare Masse (Fig. 7—11); eigentümlich ist es nur, daß diese sich niemals an den beiden Polkappen deutlich zeigt. Ob dieses nur Zufall ist, vermag ich nicht zu entscheiden. Vielleicht beruht die Inkonstanz darauf, daß das Centriol (denn damit wäre dieses Korn am besten zu vergleichen) ebenso wie das Centralkorn im ruhenden Caryosom ein ziemlich labiles Gebilde darstellt und nicht mehr ohne weiteres mit jenen konstanten Centriolen, wie HARTMANN sie z. B. bei *Entamoeba tetragena* beschrieb, zu vergleichen sind.

Bekanntlich beschrieben VAHLKAMPF und NÄGLER ganz übereinstimmende Kernteilungsbilder. Sie beobachteten aber des weiteren, wie sich ein Teil des Chromatins zwischen den Polkappen zu einer Äquatorialplatte anordnete; NÄGLER konnte beobachten, daß dieses Chromatin von den chromatischen Polkappen selbst herrührte. Zu gleicher Zeit ordnete sich die achromatische Substanz zwischen denselben in der Form von Spindelfasern an.

Von alledem ist bei *Amoeba Salteti* nicht viel zu sehen. Doch sind gewisse Andeutungen vorhanden, die darauf hinweisen, daß

diese Amöbe in dem Kernteilungsvorgang doch nahe Verwandtschaftsbeziehungen mit den obengenannten Formen aufweist. Zuerst besteht eine gewisse Tendenz eines Teiles des Chromatins, sich von den Polplatten loszulösen (Fig. 6), es wird dabei aber nie eine richtige Äquatorialplatte ausgebildet. In wenigen Fällen kommt es allerdings zu einer unscharf begrenzten Ansammlung einer sich etwas dunkler wie das Achromatin färbenden Substanz in der Äquatorialgegend des sich teilenden Caryosoms (Fig. 8, 11). Ich möchte dieses Gebilde als einen Überrest der Äquatorialplatte anderer Amöben betrachten. Zur Bildung von Chromosomen, zur Teilung der Äquatorialplatte oder auch nur zu einer etwas schärferen Ausbildung derselben kommt es nie. Wohl findet man dann und wann unscharfe Andeutungen einer Faserstruktur der achromatischen Substanz (Fig. 11). Stellt man einerseits Vahlkampf's Amöbe, andererseits *Amoeba Salteti* und dazwischen Nägler's Amöben mit gut entwickelten Äquatorialplatten nebeneinander, die sich aber in gewissen Fällen nicht mehr teilen, so erhält man eine ununterbrochene Reihe, die mit einer typischen Mitose anfängt und in einer fast vollständigen Amitose endet. Die Notwendigkeit der Einführung des Nägler'schen Begriffs „Promitose“ erscheint dabei fester begründet.

In den Endstadien der Teilung des Caryosoms (Fig. 10—13) erscheinen die Polplatten als Halbkugel, die chromatische Substanz ist in einem peripheren Mantel angeordnet, im Centrum ist eine weniger chromatische Substanz gelegen, die sich allerdings stärker färbt wie die die Polkörper verbindende achromatische Substanz. Nur selten ist im Centrum eine sich stärker färbende chromatische Masse zu beobachten (Fig. 13). Die Achromatinmasse zwischen den beiden Tochtercaryosomen (wie man sie jetzt benennen kann) wird immer schmäler (Fig. 10, 12) und reißt zuletzt durch, wobei man bisweilen an einem der Caryosome noch faserige Reste derselben beobachten kann (Fig. 13).

Der bläschenförmige Außenkern umgibt das sich teilende Caryosom wie eine geräumige Vacuole. Die Kernmembran ist nur selten deutlich (Fig. 7). Nach der Teilung des Caryosoms verkleinert sich das Bläschen schnell und schnürt sich durch (Fig. 14), daraus resultieren zwei neue Kerne mit ihrem hellen äußeren Teil und dem stark chromatischen Caryosom (Fig. 15).

Die Encystierung wird durch Abrundung der Amöbe eingeleitet (Fig. 30). Es verschwinden sodann die Vacuolen, und das Caryosom fängt an sich zu verkleinern, indem die Membran des Außenkernes undeutlich wird (Fig. 31 usw.). Zu gleicher Zeit beobachtet man

rings um den Kern herum eine undeutlich begrenzte, homogene Masse, die sich stärker wie das übrige Cytoplasma färbt (Fig. 31). An der Peripherie dieser perinucleären Zone treten sodann chromatophile Körnchen auf (Fig. 32), welche sich schnell vergrößern und in der Form von mehr oder weniger deutlich radiär gestellten Stäbchen oder Körnchenreihe den Kern umgeben (Fig. 33—35). Anfänglich ist zwischen diesen noch die homogene chromatophile Masse, aus welcher sie sozusagen „auskristallisierten", zu sehen (Fig. 33, 34), nachher ist dieses nicht mehr der Fall. Das Caryosom ist unterdessen immer kleiner geworden und wird von einem oft recht undeutlichen hellen Hof umgeben, die Überreste des Außenkernes. Wer die Verhältnisse nicht kennt, würde ohne weiteres das Caryosom für den Kern halten.

Diese Veränderungen spielen sich in den ersten 24 Stunden ab. In den zweiten 24 Stunden konnte ich, obzwar nicht immer, noch folgendes konstatieren: Das Caryosom verkleinerte sich immer mehr und ein zweiter Kreis chromatophiler Körnchen trat um ihn herum auf (Fig. 36). Das Caryosom verschwand zuletzt gänzlich und nur der innere Körnchenkreis blieb zurück (Fig. 37, 38), der aber auch nach und nach aufgelöst wurde. Der eigentliche Kern verschwand also gänzlich. Zu gleicher Zeit ordneten sich die Körnchen des äußeren Kreises zu kleineren Gruppen an (Fig. 36, 39), so daß man bei oberflächlicher Beobachtung an eine Sporulation glauben konnte. Dem ist aber nicht so, denn in älteren Cysten fand sich wiederum ein normaler, wenn auch ganz kleiner Kern mit oft recht deutlicher Membran (Fig. 40). Ich bin nicht überzeugt, daß die hier beschriebenen Vorgänge am Kern normale sind, ich führte sie auch nur wegen der eigentümlichen Bilder, die dabei auftreten, an. In älteren Cysten werden die Körnchen bisweilen undeutlich (Fig. 41), meistens werden sie gerade deutlicher mit einem hellen Hofe umgeben (Fig. 42). Diese Cysten erinnern in ihrem Bau wiederum sehr stark an jene der Noc'schen Amöbe.

Diese perinucleären Körnchen glaube ich als Chromidien auffassen zu können, obzwar ihr Austreten aus dem Kerne nicht direkt wahrgenommen wurde. Durch den Vergleich der verschiedenen Entwicklungsstadien erhielt ich aber den Eindruck, daß die Körnchen überhaupt nicht als solche austreten, sondern daß das Chromatin in gelöstem Zustande den Kern verläßt und aus diesem Chromatin erst im Cytoplasma die Körnchen entstehen.

Wie schon bemerkt, färbt die Cystenwand sich schlecht und ist wegen des mit dem umgebenden Medium übereinstimmenden

Brechungsindex für Licht im Dauerpräparat kaum zu sehen. Der Bau der Wand wurde schon erörtert.

Zum Studium der Vorgänge während der Keimung wurden 3—6—12—24 Stunden nach der Aussaat Material von den Impfstrichen entnommen und in der üblichen Weise fixiert und gefärbt. In den ersten Stunden, während die Cysten anschwellen und die Pellicula verschwindet, sieht man, wie die Chromidialkörnchen verschwinden und an ihrer Stelle eine unscharf begrenzte chromatophile Masse auftritt, gerade wie zu Anfang der Cystenbildung. Dabei vergrößert sich der Kern (Fig. 44, 45). Noch bevor die chromatischen Ansammlungen gänzlich eliminiert sind, tritt eine kontraktile Vacuole auf (Fig. 46). Unterdessen wächst der Kern stark heran und erreicht Dimensionen, die jene der normalen Amöbe überschreiten. Dieses gleicht sich aber bald wieder aus, denn nach 24 Stunden sind diese großen Kerne nicht mehr zu finden (Fig. 46, 47, 49). Schon bei der Beschreibung der Amöbe in vivo bemerkte ich, daß kurz nach der Keimung ganz kleine Amöben auftreten, die nachher nicht mehr zu finden sind. Die Untersuchung der Dauerpräparate bestätigt dieses. Die Cysten schwellen nämlich während der Keimung nicht alle an, ein Teil derselben verwandelt sich ohne weiteres in eine Amöbe (Fig. 48). Kurz nach der Cystenkeimung bemerkte ich öfters Amöben, die in ihrem Cytoplasma Vacuolen aufwiesen, die einen stark färbbaren Inhalt besaßen. Zuerst meinte ich mit Nahrungspartikelchen zu tun zu haben, mußte aber diese Annahme verwerfen, weil diese Inhaltskörperchen sich im vegetativen Leben der Amöben nicht vorfinden. Vielleicht hat man hier mit Überresten der Chromidialmasse zu tun, die auf diese Weise eliminiert wurde. Man könnte auch an Parasiten denken, nur verschwanden diese Gebilde in der Kultur, so daß letztere Annahme wohl unrichtig ist. Jedenfalls haben diese inhaltführenden Vacuolen eine nicht zu verkennende Ähnlichkeit mit den internen „Knospen“ von Noc's Amöbe, nur sind sie weniger zahlreich, doch auch Noc bildet Formen ab, in welchen nur wenige „Knospen“ vorkommen, speziell bei den freilebenden Formen. Vielleicht sind diese Gebilde nichts anderes als Vacuolen mit Inhaltskörperchen, alimentärer oder exkretorischer Bedeutung.

Es ist hiermit der Entwicklungscyclus der Amöben geschlossen. Aufs eifrigste habe ich bei Cysten verschiedenen Alters nach Anzeigen von sexuellen Prozessen (speziell Autogamie) gesucht. Cysten von 1—35 Tagen kamen zur Beobachtung. Niemals aber, weder während der Encystierung noch während der Keimung kamen Kernteilung und also noch viel weniger Kernverschmelzung zur Beob-

achtung. Sehr selten sah ich Cysten mit zwei Kernen und dann konnte ich noch nicht einmal mit Sicherheit entscheiden, ob ich mit einer jungen Cyste oder nur mit einer abgerundeten in Teilung begriffenen Amöbe zu tun hatte. Um auch sicher zu gehen, daß mir nicht ein kurz vor der Encystierung vorgehender Sexualakt entgehe, beobachtete ich öfters Kulturen von der Keimung bis zur Encystierung, doch auch dann war nur einfache vegetative Kernteilung zu beobachten. Auch von einer eventuell zu vermutenden Copulation der kleineren und größeren Keimlinge direkt nach der Keimung war nichts zu beobachten. Ich muß also annehmen, daß mir ein Teil des Entwicklungscyclus von *Amoeba Salteti*, in welchem der Sexualakt stattfindet, unbekannt geblieben ist,[1]) oder daß ein solcher überhaupt nicht vorkommt, oder endlich, daß man die Vorgänge am Kerne während der Encystierung als einen mehr oder weniger mißlungenen Anlauf zur Sexualität ansehen muß. Ich wage es nicht, mich über diese Möglichkeiten entscheidend auszusprechen.

Schlußbemerkung.

Neben einer Bestätigung eines Teiles der umfangreichen Nägler-schen Arbeit geben diese Befunde meines Erachtens eine weitere Stütze für die Binuclearitätshypothese. Durch die Struktur des ruhenden Kernes ist es deutlich zu sehen, daß diese wirklich aus zwei Teilen: dem Caryosom und dem Außenkern besteht. Ersteres beträgt sich vollkommen wie ein selbständiger Kern, der letztere bildet nur um das Caryosom eine ziemlich inerte Hülle. Diese extreme Kernstruktur ist darum besonders demonstrativ, weil sie zeigt, daß das Caryosom im Prinzip nicht einfach ein Stützorgan ist, welches die Kernteilung reguliert, sondern sich ganz unabhängig von dem Außenkerne und dessen Teilung zeigen kann. Eigentümlich und vielleicht auch theoretisch nicht uninteressant ist die Tatsache, daß, indem das Gleichgewicht bei den meisten Kernen zum Nachteil des Caryosoms verschoben wird, dieses hier gerade umgekehrt ist und hier der Außenkern oft bis zum Verschwinden reduziert erscheint.

Des weiteren zeigt das Studium von *Amoeba Salteti* die große Übereinstimmung dieser Amöben mit der von Noc aus der Wasserleitung Saigons isolierten Form, der er pathogene Bedeutung zuschreibt. Hartmann wies auf die Übereinstimmung dieser Amöbe

[1]) Als solchen mußte man vielleicht das von Wasielewski u. Hirschfeld (1909) beschriebene Flagellatenstadium, von welchem ich nie etwas sah, ansehen.

mit den von Nägler beschriebenen Limaxformen hin, die Übereinstimmung mit *Amoeba Salteti* ist, wenn möglich, noch größer, zumal der Cystenbau, der bei beiden Formen etwas Abweichendes zeigt, übereinstimmt. Nur der internen Knospung mangelt *Amoeba Salteti*, ich habe aber schon gezeigt, wie man diese auch bei Noc's Amöbe anders deuten kann. Es macht diese Übereinstimmung die pathogene Bedeutung der Saigoner Amöbe, die wahrscheinlich eine harmlose ubiquitäre Form darstellt, wohl sehr unwahrscheinlich und zeigt aufs neue die Berechtigung des Hartmann-Nägler'schen Desideratums einer genaueren Kenntnis der freilebenden Amöben, damit man die Befunde parasitischer Amöben besser beurteilen kann.

Amsterdam, den 2. März 1910.

Literaturverzeichnis.

1909 Frosch: Beitrag zur Biologie saprophytischer Amöben. in: Zeitschr. f. Krebsforschung Bd. VIII.

1909 Hartmann: Untersuchungen über parasitische Amöben. in: Arch. f. Protistenk. Bd. XVIII.

1908 —: Eine neue Dysenterieamöbe Entamoeba tetragena. in: Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Beiheft 5.

1909 Nägler: Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

1909 Noc: Sur la dysenterie amibienne en Cochinchine. in: Ann. de l'Inst. Pasteur Bd. XXIII.

1909 Wasielewski u. Hirschfeld: Zur Technik der Amöbenuntersuchung. in: Hygien. Rundschau Nr. 16.

1905 Vahlkampf: Beitrag zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax. in: Arch. f. Protistenk. Bd. V.

Tafelerklärung.

Alle Figuren sind mit dem Zeiss'schen Zeichenapparat entworfen. Fig. 1—4 und 50 mit Obj. F, Oc. 2. die übrigen Figuren mit Apochr. Obj., homog. Immers. 2 mm und Comp. Oc. 18 (Zeiss).

Tafel V.

Fig. 1—3. Vegetative Formen. } Beobachtung in vivo.
Fig. 4. Idem, kurz nach der Keimung. } Beobachtung in vivo.
Fig. 5. Vegetative Form.
Fig. 6—15. Kernteilungsstadien.
Fig. 17—23. Verschiedene Strukturbilder des Caryosoms.

Tafel VI.

Fig. 30. Amöbe, die sich zur Encystierung anschickt.

Fig. 31. Anfangsstadium der Chromidienbildung.

Fig. 32—35. Chromidienbildung.

Fig. 36—39. Zerfall des Kernes.

Fig. 40—42. Cysten verschiedenen Alters. Der Kern hat sich wieder regeneriert.

Fig. 43. Cyste mit kontrahiertem Inhalt, deutlich die Struktur der Pellicula zeigend.

Fig. 44—47. Keimungsstadien.

Fig. 48. Kleine Amöbe.

Fig. 49. Amöbe mit Inhalt-führenden Vacuolen.

Fig. 50. Amöbe, multiple Teilung zeigend (Lebendbeobachtung).

(Aus dem königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Dinoflagellatenstudien.

Von

Victor Jollos.

(Hierzu Tafel VII—X.)

Gleich vielen anderen freilebenden Mastigophoren ist die Gruppe der Dinoflagellaten oder Peridineen noch relativ wenig genauer bekannt. Seit langem freilich sind zu ihr gehörige Formen untersucht und beschrieben, und groß ist die Zahl der Arbeiten, die im Laufe der Jahre über sie veröffentlicht wurden. Aber bis in die jüngste Zeit interessierten sich die meisten Beobachter nur für die äußere Gestalt, vor allen Dingen für die Struktur der Hülle, und über dem Studium dieses Produktes des Lebendigen wurde die lebendige Substanz selbst gar arg vernachlässigt. Es zeigt sich hier also die gleiche Einseitigkeit der Forschungsrichtung, wie sie LAUTERBORN für die früheren Diatomeenarbeiten hervorhebt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen bis in die Mitte der 80er Jahre des vorigen Jahrhunderts sind auch für die Dinoflagellaten in BÜTSCHLI's berühmtem Protozoenwerke erschöpfend dargestellt. Aus dieser Periode sei daher nur erwähnt, daß die ersten Mitteilungen über Peridineen von O. F. MÜLLER (aus dem Jahre 1773) stammen, daß dann EHRENBERG, BERGH, POUCHET und vor allem STEIN eine große Anzahl von Arten beschrieben und abgebildet haben, während erst von KLEBS genauere Angaben über die innere Organisation, besonders über die Struktur des Kernes gegeben worden sind. KLEBS

hat auch als erster festgestellt, daß es sich um zweigeißelige Flagellaten handelt; die früheren Untersucher glaubten außer der Längsgeißel einen Wimperkranz zu sehen, weshalb sie die ganze Gruppe auch als „Cilioflagellaten“ bezeichneten. Aus den letzten 25 Jahren sind gleichfalls nur wenige Arbeiten hervorzuheben, in erster Linie die schöne Untersuchung von LAUTERBORN über die „Kern und Zellteilung von *Ceratium hirundinella*“. SCHÜTT hat 1895 eine umfassend angelegte Monographie der Peridineen auf Grund des Materials der Planktonexpedition begonnen. Eine Fortsetzung dieser Bearbeitung ist aber bisher nicht erschienen. In den letzten Jahren endlich sind von ZEDERBAUER und ENTZ Beobachtungen veröffentlicht worden, die eine an die Conjugaten und Diatomeen erinnernde Copulation wenigstens bei *Ceratium hirundinella* wahrscheinlich machen. Da aber die Einzelheiten dieses Vorganges nicht bekannt sind und bei anderen Peridineen eine derartige Vereinigung bisher nicht mit Sicherheit beobachtet werden konnte, so kann die Frage nach der Sexualität bei dieser Gruppe der Protisten noch keineswegs als geklärt gelten. Demgemäß ist noch bei keiner Art der ganze Entwicklungsgang festgestellt; die cytologischen Kenntnisse sind gleichfalls bisher sehr lückenhaft, und gerade der Punkt, der am besten untersucht worden ist, die Kernteilung (nach LAUTERBORN), gibt zu manchen Fragen von allgemeinerer Bedeutung Anlaß, da nicht unerhebliche Unterschiede gegenüber den anderen Protozoen zunächst zu bestehen scheinen. Daß endlich auch die Beziehungen der Peridineen zu anderen Protistengruppen wie ihre systematische Stellung überhaupt nach den bisherigen Forschungen noch unsicher sind, versteht sich danach wohl von selbst.

Material und Untersuchungsmethoden.

Zum Teil sind die mangelhaften Kenntnisse von der Organisation und Entwicklung der Dinoflagellaten durch die Schwierigkeiten der Beobachtung und Behandlung des Materials verursacht. Wohl kann man Süßwasser- wie Meeresformen meist in genügenden Mengen beschaffen und wenigstens kurze Zeit am Leben erhalten, aber Kulturen, die bei anderen Einzelligen das Studium so sehr erleichtern, ließen sich infolge der großen Empfindlichkeit der Dinoflagellaten nicht herstellen, so daß man auf eine Kombination der zufällig im

Freien gefundenen Stadien angewiesen war. Erst unlängst ist es Küster (1908) gelungen, zum ersten Male eine Peridinee, und zwar ein marines *Gymnodinium* zu kultivieren. Diese Art tritt sehr häufig in Meerwasseraufgüssen von Fucusmaterial (*Fucus serratus, Fucus vesiculosus*) aus Helgoland auf, läßt sich daraus leicht von anderen Protozoen isolieren und nach den Angaben von Küster sowohl in künstlichem Meerwasser, dem etwas Fucusextrakt zugesetzt wird, wie auch auf festen Nährböden aus Agar (oder Gelatine) + Fucusextrakt zu reichlicher Vermehrung bringen.

Da man auf diese Weise ständig lebendes Material zur Verfügung hat, so ging ich bei meinen Untersuchungen von *Gymnodinium fucorum* — so nannte Küster die von ihm kultivierte Form — aus. Eine Aufgußkultur wurde mir zunächst von Herrn Prof. E. Küster freundlichst zur Verfügung gestellt, dem ich auch hier für sein Entgegenkommen bestens danke; später konnte ich mehrmals Gymnodinien direkt aus Helgoländer Fucus züchten. Die Isolierung und Kultur erfolgte meist nach den Angaben von Küster; recht gut vermehrten sich die Gymnodinien aber auch längere Zeit auf gewöhnlichem dünnflüssigen Bouillonagar (ohne Fucusextrakt), wie er von Frosch für die Kultur von Amöben angegeben worden ist. Setzt man einen Tropfen Meerwasser mit Gymnodinien auf einen solchen Nährboden, so sinken die Flagellaten mit dem Verdunsten der Flüssigkeit etwas in das Substrat ein und encystieren sich. In der Cyste erfolgt auch die Teilung. Durch leichtes Andrücken eines Deckgläschens erhält man nun mit Leichtigkeit ein Abklatschpräparat mit derartigen encystierten Gymnodinien. Nur ältere Cysten bleiben hierbei gewöhnlich nicht am Glase haften, können aber mit einer Platinöse mit etwas Agar oder Gelatine ausgestrichen werden. Konserviert wurden die Abklatsch- und Ausstrichpräparate mit Sublimatalkohol nach Schaudinn sowie Flemming'scher und Hermann'scher Lösung. — Ungleich schwieriger ist die Fixierung der freien Flagellatenform. *Gymnodinium fucorum* setzt sich an Deckgläschen weder am Boden noch an der Oberfläche der Flüssigkeit fest. Auch bei Ausstrichen mit etwas Eiweiß oder Gelatine oder Massenkonservierung zusammen mit der Flüssigkeit und nachträglichem Centrifugieren erzielt man infolge der großen Empfindlichkeit der Gymnodinien keine guten Resultate. Vor allem gehen die Geißeln stets verloren. Die relativ günstigsten Ergebnisse erhielt ich auf die Weise, daß auf einem Objektträger oder Deckgläschen zu einem kleinen Tropfen Meerwasser mit zahlreichen Flagellaten mehrere Tropfen 1 proz. Osmiumsäure oder noch besser Pikrinessigsäure hinzu-

gesetzt wurden. Nach 10—15 Minuten wurde mit Wasser resp. 70proz. Alkohol abgespült und dann in üblicher Weise weiterbehandelt. Bei dieser Methode bleibt wenigstens ein kleiner Teil der Gymnodinien auch während des Färbens und Einschließens haften und wird auch ganz leidlich konserviert. Neben *Gymnodinium fucorum* wurden zu Vergleichszwecken mehrere marine Ceratiumarten — vor allem *Ceratium tripos* — untersucht. Das Material erhielt ich von der Biologischen Anstalt Helgoland zugesandt. Für die sorgfältige, meinen Wünschen entsprechende Konservierung (auch hierbei wurde meistens Sublimatalkohol oder Flemming'sche Lösung angewandt) bin ich Herrn Dr. Mielck zu besonderem Dank verpflichtet. Zur Färbung benutzte ich vor allem das Heidenhain'sche Eisenhämatoxylin, sowie Delafield's Hämatoxylin. Gelegentlich wurden daneben auch andere Farbstoffe angewandt, die aber weniger gute Resultate ergaben, so Boraxkarmin, Saffranin und das Eosin-Azurgemisch nach Giemsa. Das Delafield'sche Hämatoxylin gibt bei *Gymnodinium fucorum* Bilder, die an Schärfe und Klarheit den mit Eisenhämatoxylin erzielten nur wenig nachstehen, besonders wenn man stark überfärbt und dann mit Salzsäurealkohol differenziert.

I. *Gymnodinium fucorum* Küster.

Die freien Flagellaten.

Die äußere Gestalt und das Verhalten von *Gymnodinium fucorum* in Nährlösungen sowie auf Fucusagar und Fucusgelatine ist bereits von Küster (1908) beschrieben worden. Die freien Flagellaten sind nach seiner Schilderung durchaus asymmetrisch, stets etwas länger als breit. Die Querfurche steigt mäßig steil in Spiralwindung an; die Vorderhälfte der Zelle ist etwas voluminöser als die hintere. Chromatophoren fehlen. Die hintere Geißel ist $1^1/_2$—2 mal so lang wie die Zelle und leicht zu sehen, während die kurze Seitengeißel nur an absterbenden Individuen gut beobachtet werden kann. Während alle diese Angaben auch für das von mir untersuchte Material durchaus zutreffen, bestehen hinsichtlich der Größe erhebliche Unterschiede. Küster gibt als Durchschnittslänge 65—75 μ, als größte gemessene Länge 85 μ, als kleinste 28 μ an. Meine Gymnodinien, und zwar sowohl die mir von Prof. Küster überlassenen, wie die von mir selbst gezüchteten, waren meist 15—20 μ und nie mehr als 40 μ

lang. Es wäre also möglich, daß es sich hier um zwei verschiedene Arten handelt. Entscheiden läßt sich dies aber kaum, da ja die Größenunterschiede allein besonders bei Protozoen nicht zur Trennung von Arten genügen und die übrigen äußeren Merkmale in beiden Fällen übereinstimmen, die innere Struktur aber ist von KÜSTER nicht untersucht worden.[1])

Beim Abtöten der Flagellaten schwinden auch bei der besten Konservierung die beiden Furchen fast vollständig; sie sind also bei dieser Art offenbar im wesentlichen nicht durch die Struktur der Oberfläche, sondern durch die Protoplasmaspannung, zum Teil wohl auch durch die Tätigkeit der Geißeln bedingt. Die konservierten Gymnodinien haben demgemäß ihre charakteristische Gestalt ganz verloren. Nur eine leichte Einschnürung der Zelle auf beiden Seiten markiert die frühere Lage der Querfurche.

Von den Geißeln sei schon hier erwähnt, daß sie entweder direkt oder durch Vermittlung eines Basalkornes vom Caryosom, genauer vom Centriol, des Kernes ausgehen, von dem sie auch genetisch ihren Ursprung nehmen. Im einzelnen soll erst später darauf eingegangen werden. Auch die Struktur von Plasma und Kern der Gymnodinien wollen wir genauer an den encystierten Formeln behandeln, da sie dort besser beobachtet werden können. Diese Strukturen sind ja bei den freien Flagellaten und bei den Cysten im wesentlichen die gleichen.

Die Cysten.

Die Encystierung erfolgt bei *Gymnodinium fucorum* einmal vor Beginn der Vermehrungsvorgänge, wie schon KÜSTER angibt, in ziemlich regelmäßiger Folge, etwa alle 24 Stunden. Außerdem läßt sie sich aber willkürlich dadurch erzeugen, daß die Flagellaten mit nur wenig (allmählich verdunstendem) Wasser auf einen ziemlich festen Nährboden gebracht werden. In beiden Fällen ist der Vorgang zunächst der gleiche: Die Gymnodinien verlieren die Geißeln, runden sich ab, während die Furchen schwinden, und umgeben sich mit einer Membran, die bei den Fortpflanzungscysten meist ziemlich zart bleibt, bei den nur zum Schutze gebildeten dagegen allmählich dicker und fester wird, so daß schließlich keinerlei Farbstoffe hindurchgehen können. Dieser Umstand muß natürlich bei der Herstellung

[1]) Sicher kommen in Fucusaufgüssen gelegentlich mehrere Gymnodinienarten vor; so konnte ich zweimal eine etwas kleinere und schlankere Form mit Chromatophoren beobachten.



der Präparate sehr in Rechnung gezogen werden. Zwischen Fortpflanzungs- und Schutzcysten läßt sich sonst kein Unterschied machen, schon deswegen nicht, weil auch in den „Schutzcysten“, wenn man sie entsprechend lange ohne Wasserzusatz hält, die Gymnodinien in normaler Weise zur Teilung schreiten. — Auf festen und ziemlich trockenen Nährböden können sich die Flagellaten im encystierten Zustand sehr lange am Leben erhalten. In einem Falle schlüpften noch nach vier Monaten aus derartigen Cysten nach Wasserzusatz normale Gymnodinien aus. Für gewöhnlich scheinen sie allerdings solchen ungünstigen Bedingungen schon weit eher zu erliegen. Eine sichere Cellulosereaktion konnte ich übrigens — ebenso wenig wie Küster — auch nicht bei den ältesten und dicksten Cystenmembranen feststellen.

Protoplasma und Kern.

Das Plasma der Gymnodinien besteht aus großen, ziemlich regelmäßigen Waben, die besonders bei älteren Cysten mit geradezu schematischer Deutlichkeit hervortreten (Fig. 23), da alsdann die das Bild anfänglich trübenden Nähr- und Reservestoffe mehr oder weniger aufgebraucht sind. Nicht selten findet man im Plasma — besonders bei Cysten auf Fucusagarnährböden — Tropfen einer ölartigen Flüssigkeit, die sich in Alkohol nicht lösen, aber durch Osmiumsäure in charakteristischer Weise geschwärzt werden. Ihr Auftreten hängt wohl von der Beschaffenheit des Nährsubstrates ab, da sie gewöhnlich ungefähr gleichzeitig bei fast allen Individuen einer Kultur oder doch wenigstens eines Kulturbezirkes zu beobachten sind. Die Öltropfen können stark anwachsen (Fig. 21), sogar $^3/_4$ des Zellinhaltes und mehr einnehmen. So lange sie nicht gar zu groß sind, scheinen die Lebensprozesse kaum gestört zu sein; die betreffenden Gymnodinien können sich in normaler Weise teilen (Fig. 22), und bei Zusatz von Wasser entstehen wieder die freien Flagellatenformen, bei denen die Öltropfen allmählich schwinden. —

Der Kern von *Gymnodinium fucorum* nimmt in der Cyste keine bestimmte Lage ein. Man sieht ihn ungefähr ebenso oft in der Mitte, wie einer Seite genähert; bei den freien Flagellaten befindet er sich gewöhnlich in der unteren Hälfte. Meist besitzt er eine relativ ansehnliche Größe. Im Leben kann man mitunter eine zarte Kernmembran erkennen, an gefärbten Präparaten war sie aber niemals nachweisbar. Der Kern besteht aus einem feinen Wabenwerk, das aber nur selten gleichförmig erscheint. Für gewöhnlich sieht man eine größere Anzahl von Körnern chromatischer Substanz in

ziemlich regelmäßiger Anordnung eingelagert. Infolge ihrer intensiven Färbbarkeit treten diese Körner so stark hervor, daß man zunächst nur sie allein bemerkt und die zwischen ihnen gelegenen erheblich blasseren und feineren Wabenwände häufig nur schwer feststellen kann. Im Kerne findet sich ferner bald in der Mitte, bald an der Seite ein meist ansehnliches — in seiner Größe übrigens wechselndes — Kernkörperchen (Caryosom), das von einer Art Membran umschlossen sein kann (Fig. 2, 3). Im Innern des Caryosoms wiederum liegt ein kleines Körperchen, das wegen seiner gleich zu besprechenden Funktion bei der Teilung als Centriol bezeichnet werden muß. Bei der ruhenden geißellosen Zelle ist dies Centriol nur sehr selten deutlich zu erkennen (Fig. 1), anders verhält es sich bei der Kernteilung und, was wie wir sehen werden prinzipiell fast auf das gleiche hinauskommt, bei der Geißelbildung.

Vermehrung und Geißelbildung von *Gymnodinium fucorum*.

Von der Teilung sind im Leben nicht viele Einzelheiten zu erkennen, da die Beobachtung durch die Cystenmembran und vor allem durch die geringe Größe der Gymnodinien sehr erschwert ist. Immerhin sieht man an günstigen Objekten, wie sich das vorher ungefähr kugelige Caryosom allmählich in die Länge streckt, worauf der Kern nach beiden Seiten auseinanderweicht. Das Caryosom zerfällt in zwei sich abkugelnde Teile, um jeden rundet sich die Hälfte des schon vorher durchschnürten Außenkernes, und die so entstandenen neuen Kerne rücken auseinander. Die Teilungsvorgänge spielen sich sehr langsam ab. In den von mir beobachteten Fällen vergingen von Beginn der deutlichen Streckung des Caryosoms bis zum Auseinanderrücken der fertigen Tochterkerne mehrere Stunden. Während die Beobachtung im Leben äußerst schwierig ist und überhaupt nur unter günstigen Umständen — bei großen Cysten mit sehr dünner Membran und klarem Plasma — gelingt, lassen sich an den gefärbten Präparaten alle Einzelheiten der Teilung meist mit Leichtigkeit feststellen.

Im Innern des Caryosoms tritt zunächst das schon oben erwähnte Körperchen (Centriol) deutlicher hervor (Fig. 1), es teilt sich, und die beiden Tochtercentriole rücken auseinander, bleiben aber noch durch eine feine Brücke („Centrodesmose“) verbunden (Fig. 2). Mit dem weiteren Auseinanderweichen der Centriole streckt sich auch das Caryosom in die Länge; war es von vornherein nur klein und chromatinarm, so erscheint es auf diesem Stadium im

wesentlichen nur als schmaler, die Centriole und Centrodesmose umgebender hellerer Hof (Fig. 4 u. 5). Die weiteren Teilungsvorgänge können nun in etwas verschiedener Weise ablaufen: In ziemlich seltenen Fällen (Fig. 6 u. 7) streckt sich das Caryosom nur wenig und teilt sich alsbald; die beiden Tochtercaryosome runden sich ab und bleiben noch kurze Zeit miteinander verbunden. Dann schwindet aber auch diese Verbindung, und es ist ein Kern mit zwei selbständigen Caryosomen entstanden (Fig. 7). Die Caryosome rücken immer weiter voneinander ab, und dementsprechend weicht auch der Außenkern allmählich auseinander, bis er sich schließlich in der Mitte durchschnürt.

Für gewöhnlich wird aber dieses Stadium auf einem etwas anderen Wege erreicht: Dem Auseinanderweichen der Centriole folgend, streckt sich das Caryosom sehr in die Länge (Fig. 8, 9). Dementsprechend wird auch der Außenkern in der gleichen Richtung auseinandergetrieben. Ungefähr in seiner Mitte tritt allmählich eine sich ständig vertiefende Einschnürung auf (Fig. 8), bis zwei selbständige und voneinander abrückende Außenkerne entstehen, die nur durch das langgestreckte Caryosom in der Mitte verbunden sind. Schließlich teilt sich auch das Caryosom durch, seine Masse rundet sich um die Centriole an den beiden Enden ab, und auch die Außenkerne schließen sich rings herum, so daß auch auf diese Weise nunmehr in der Zelle zwei dem ursprünglichen analog gebaute Kerne liegen, die allmählich auseinanderrücken, aber noch längere Zeit durch die sich zwischen den Centriolen spannende Centrodesmose verbunden bleiben können.

Die einzelnen Phasen der Teilung verlaufen nun keineswegs immer genau in der soeben beschriebenen Ordnung. Die Durchschnürung von Caryosom und Außenkern erfolgt bis zu einem gewissen Grade unabhängig voneinander, so daß bald der eine, bald der andere Teil etwas voraus ist (vgl. Fig. 8—10). Nur die Teilung des Centriols und der Beginn der Caryosomstreckung findet unter allen Umständen vor dem Auseinanderweichen des Außenkernes statt. Die einzelnen Phasen und Variationen der Teilung zeigen, wie schon hier erwähnt sei, ebenso wie die Struktur des Kernes eine überraschend weitgehende Übereinstimmung mit *Oxyrrhis marina* nach der Beschreibung und den Abbildungen von Keysselitz (1908). Auf die Einzelheiten und die Bedeutung dieser Übereinstimmung wird noch zurückzukommen sein.

Mit einigen Worten muß aber noch auf das interessante Verhalten des Centriols von *Gymnodinium fucorum* eingegangen werden:

Es erscheint nämlich zweifelhaft, ob sich hier überhaupt jemals im Ruhestadium ein einfaches Centriol befindet, oder ob es nicht schon immer geteilt ist und die „Tochtercentriole“ nur lange nahe beieinander liegen. Für die letztere Annahme spricht einmal der Umstand, daß das Centriol in den wenigen Fällen, wo es überhaupt ungeteilt klar dargestellt werden konnte, stets länglich-oval erschien (Fig. 1). Sodann aber zeigte ein Teilungsbild (Fig. 3) mit aller Deutlichkeit, daß die eben auseinanderweichenden und noch durch die Centrodesmose verbundenen Centriole selbst schon wieder geteilt waren, und zwar ungefähr im rechten Winkel zur ersten Teilungsrichtung. Es handelt sich also um ähnliche Verhältnisse, wie sie Rosenbusch bei der Teilung des Blepharoplastes von Trypanosomen beobachtet hat. Rosenbusch und Prowazek weisen auch bereits auf die Analogie mit der von Nemec bei *Allium* und Bonnevie bei *Ascaris* beschriebenen frühzeitigen Chromosomenspaltung hin, und auf diesen Erscheinungen fußend, hat Prowazek (1910) unlängst eine sehr plausible Zellteilungshypothese skizziert.

Die beiden bei *Gymnodinium* aus der Teilung hervorgehenden Kerne sind in der Regel annähernd gleichgroß; ab und zu sieht man aber auch ausgesprochen heteropole Kernteilungen, denen jedoch keine besondere Bedeutung zuzukommen scheint. Ein derartiger Fall ist in Fig. 20 wiedergegeben.

Die Durchschnürung des Plasmas kann zu verschiedener Zeit einsetzen, gewöhnlich erst nach Vollendung der Kernteilung, manchmal schon erheblich früher. Sie erfolgt ziemlich genau in der Mitte der Zelle zwischen den beiden auseinander rückenden Kernen, und zwar meist gleichzeitig von beiden Seiten von der Peripherie zum Centrum fortschreitend. Mitunter ist die Durchschnürung des Plasmas schon fast vollzogen, während die Verbindung zwischen den beiden Centriolen der Kerne (Centrodesmose) noch besteht (Fig. 11). — Nach Ablauf der Teilung liegen zwei halbkugelige Zellen dicht nebeneinander, an der Peripherie zunächst noch fest von der Cystenmembran umschlossen. Nur an den beiden einander gegenüberliegenden Durchschnürungsstellen ist das Plasma etwas zurückgetreten, und von hier aus erfolgt dann die allmähliche Loslösung der Zellen von der Cystenmembran. Gleichzeitig weichen sie auch etwas auseinander und beginnen mit der Geißelbildung (Fig. 12), deren Einzelheiten erst später geschildert werden sollen. Häufig ist die Cystenmembran schon während der Plasmateilung geschwunden; umgekehrt kann sie aber auch — besonders bei sehr festen Nährböden — noch lange unverändert bleiben. Die beiden Zellen lösen

sich in diesem Falle ganz von der Membran los und runden sich ab (Fig. 13); das Ausschwärmen der Gymnodinien, meist auch schon die Geißelbildung erfolgt aber erst nach Zusatz von Wasser.

Neben der von uns bisher betrachteten Zweiteilung der Gymnodinien kommt es in der Cyste nicht allzu selten zu einer etwas anders verlaufenden Vermehrung. Zunächst durchschnürt sich der Kern in der üblichen Weise und die Tochterkerne rücken auseinander. Statt aber nunmehr zu ruhen oder zur Geißelbildung zu schreiten (s. u.), teilen sie sich alsbald noch einmal, und zwar meist senkrecht zur ersten Teilungsrichtung (Fig. 14—16). Der Verlauf der Durchschnürung ist bis in alle Einzelheiten der gleiche, wie das erste Mal; auch hier finden sich die mannigfachsten Variationen in der Aufeinanderfolge der verschiedenen Phasen der Caryosom- und Außenkernteilung. Die zweite Durchschnürung vollzieht sich bei den beiden Kernen unabhängig voneinander. Man findet sie daher fast ebenso häufig auf verschiedenen wie auf denselben Teilungsstadien. Das gleiche gilt auch vom Plasma (Fig. 17). Die oben beschriebene erste Plasmadurchschnürung erfolgt schon vor oder während der zweiten Kernvermehrung. Später teilt sich das Plasma dann noch einmal, mitunter zerfällt es aber auch erst nach Bildung der vier Kerne gleichzeitig in vier Teile.

In vereinzelten Fällen schreitet ferner nur der eine Kern zu einer abermaligen Durchschnürung, während beim anderen die Geißelbildung beginnt (Fig. 19). Auf diese Weise erklärt sich wohl das gelegentliche (aber seltene) Auftreten von drei statt vier oder zwei ausgebildeten Gymnodinien innerhalb einer Cystenmembran.

Geißelbildung.

Bevor die jungen Gymnodinien die Cyste verlassen, resp. auseinandergehen, wird der Geißelapparat mehr oder weniger vollständig ausgebildet.

Beide Geißeln entstehen, wie schon erwähnt, vom Kerne aus, doch scheint bei der Genese der hinteren und der Seitengeißel ein kleiner Unterschied zu bestehen. Die in der Querfurche verlaufende seitliche Geißel kommt in der Weise zustande, daß sich das Centriol (und Caryosom) heteropol teilt (Fig. 24). Der neu entstehende kleine Körper bleibt entweder im oder doch dicht am Kern liegen und durchschnürt sich noch einmal. Die eine Teilungshälfte verbleibt als „Basalkorn“ an ihrem Platze, während die andere durch das Plasma zur Peripherie der Zelle rückt (Fig. 25). Die zwischen den

beiden Teilstücken sich spannende Centrodesmose wird zur Geißelfibrille. Das Basalkorn und die am peripheren Ende der noch nicht vollständig ausgebildeten Geißel nachweisbare Verdickung (Fig. 25) beweisen deutlich diese Genese.

Die Entstehung der hinteren Geißel weicht nur darin von der der seitlichen ab, daß ein Teilungsschritt offenbar unterbleibt: Vom Caryosom wird nicht erst ein sich nochmals teilendes „Basalkorn“ abgeschnürt, sondern gleich bei der ersten (heteropolen) Teilung rückt das sich ablösende Körperchen durch das Plasma nach außen, und seine bestehenbleibende Verbindung mit dem Centriol wird zur Geißelfibrille. Demgemäß kann man auch die Längsgeißel ohne Unterbrechung bis zum Caryosom an besonders günstigen Präparaten bis zum Centriol verfolgen (s. Taf. XI Fig. 26 Taf. X Fig. 12 rechts). Dennoch ist das Fehlen eines Basalkornes der hinteren Geißel nicht absolut sicher; häufig bleibt nämlich bei der Seitengeißel die Verbindung des Basalkornes mit dem Centriol bestehen, und wenn dann noch das Basalkorn selbst sehr klein ist, so wird auch hier ein unmittelbarer Ursprung der Geißel aus dem Caryosom resp. Centriol vorgetäuscht. Bei der hinteren Geißel könnte man also an ähnliche Verhältnisse denken. Auf jeden Fall aber entstehen beide Geißeln auch bei *Gymnodinium* durch Teilungsvorgänge aus dem Caryosom (resp. Centriol), also prinzipiell in der gleichen Weise, wie wir es seit Schaudinn's bahnbrechenden Untersuchungen bei einer ganzen Reihe von Flagellaten kennen gelernt haben, und wie es wohl für alle fibrillären Bildungen der Zellen gilt.

Nach Ausbildung des lokomotorischen Apparates oder auch schon vorher löst sich die Cystenmembran, und die jungen Flagellaten schwärmen auseinander. Damit ist also wieder das Stadium erreicht, von dem wir bei unserer Betrachtung ausgingen.

Schwärmerbildung.

Monatelang wechseln auf diese Weise bewegliche Formen und Cysten regelmäßig miteinander ab. Irgendwelche weiteren Entwicklungsstadien sind nicht zu beobachten, vor allen Dingen also keine Spur irgend eines sexuellen Vorganges, den man doch nach Analogie mit allen anderen genauer bekannten Protozoen auch hier annehmen sollte. Alle Versuche durch Wechsel der äußeren Lebensbedingungen — Änderung der Temperatur, der Konzentration des Mediums und der Art der Nährlösung — führten zu keinem Er-



gebnis. Allzuweit kann man übrigens in dieser Richtung wegen der Empfindlichkeit der Gymnodinien nicht gehen.

Was auf experimentellem Wege nicht zu erreichen war, trat plötzlich „von selbst“ ein. In mehreren geschlossenen Schalen, in denen ich zahlreiche Gymnodinien einige Monate — allerdings nicht in „Reinkultur“ gezüchtet hatte, erschienen Ende November 1909 auf einmal zahlreiche kleine Flagellaten, die ich vorher nicht beobachtet hatte (Fig. 30—41). Obwohl natürlich zunächst an eine Verunreinigung der Kultur zu denken war, so erregten doch die charakteristische Ausbildung des lokomotorischen Apparates und die von den Protomonadinentypen etwas abweichende Beschaffenheit des Kernes in mir den Verdacht, daß es sich hier um Entwicklungsstadien von *Gymnodinium fucorum* handele. Um dies klarzustellen wurden mehrere „Reinkulturen“ der kleinen Flagellaten auf mit künstlichem Meerwasser überschichteten Fucusagarplatten angelegt, d. h. natürlich nur protozoische Reinkulturen, da ja Bakterien bei den hier angewandten Methoden stets vorhanden sind, aber nicht stören. Die Trennung von den Gymnodinien und etwa noch vorhandenen Infusorien gelingt ziemlich leicht, da die kleinen Flagellaten sich außerordentlich rasch vermehren. Bringt man daher einige Tropfen der ursprünglichen Mischkultur auf eine frische Fucusagarplatte mit Seewasser, so wimmelt die Flüssigkeit schon nach drei Tagen von den kleinen Flagellaten, während die anderen Protozoen, vor allem die großen Gymnodinien sich nur relativ schwach vermehrt haben. Impft man nun in entsprechender Weise von der ersten Platte auf eine zweite und so weiter, so erhält man bald — spätestens wohl auf dem vierten Nährboden — nur noch die kleinen Flagellaten. Um aber ganz sicher zu gehen, wurden von diesen letzten Kulturen kleine Tropfen auf einen Objektträger gebracht, unter dem Mikroskop genau auf das Fehlen von Gymnodinien geprüft und dann erst auf drei frische Kulturschalen verimpft. In allen Fällen vermehrten sich die kleinen Flagellaten in den Kulturen äußerst rasch — bei Zimmertemperatur besser als bei 28° — und behielten die intensive Teilungsfähigkeit längere Zeit bei. I n a l l e n K u l t u r e n — a l s o a u c h i n d e n d r e i u n t e r d e n o b e n b e s c h r i e b e n e n b e s o n d e r e n V o r s i c h t s m a ß r e g e l n h e r g e s t e l l t e n — t r a t e n n u n n a c h e t w a d r e i W o c h e n t y p i s c h e G y m n o d i n i e n a u f. Zunächst erschienen sie etwas kleiner als die gewöhnlichen Formen und traten nur ganz vereinzelt auf, nach 4—5 Wochen aber waren sie in großer Zahl vorhanden und entsprachen vollkommen den von mir ursprünglich untersuchten Stadien

von *Gymnodinium fucorum.* Nach diesem klaren Ergebnis der Kulturversuche kann wohl an der Zugehörigkeit der kleinen Flagellatenform zum Entwicklungsgang von *Gymnodinium fucorum* nicht mehr gezweifeit werden. Cytologisch konnte ich ihre Entstehung leider nicht verfolgen und kann auch fürs erste keine weiteren Untersuchungen in dieser Richtung vornehmen, da bisher weder aus den neu entstandenen Gymnodinien noch bei nunmehr frisch aus Fucusmaterial angesetzten diese Stadien auftraten, was ja auch nicht weiter wundernehmen kann, da eine derartige Schwärmerbildung offenbar nur in großen Zwischenräumen — nach vielen hunderten von Teilungen erfolgt.

Die kleinen Schwärmer (diese indifferente Bezeichnung ist wohl zunächst am zweckmäßigsten), variieren in Gestalt und Größe nicht unbeträchtlich (Fig. 30—33). In der Regel sind sie etwa 5 μ lang und 3 μ breit, doch kommen auch nahezu kugelige und dabei erheblich größere Formen vor (Fig. 32). Das Plasma ist ziemlich grob-wabig und enthält meist keine geformten Einschlüsse. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte. Er besteht aus einem im Vergleich zur Zelle recht großen Caryosom, das von einer Kernsaftzone von verschiedener Breite und wechselndem Chromatingehalt umgeben wird. Anfänglich — bei den ersten Flagellatengenerationen — erscheint der Außenkern fast chromatinlos (Fig. 32, 40), späterhin findet sich aber chromatische Substanz in diffuser Verteilung (Fig. 30, 39). Im Caryosom ist, wie zu erwarten war, ein Centriol nachweisbar.

Zwei Geißeln von verschiedener Länge sind vorhanden, die von einem Basalkorn entspringen, das bald im vorderen Ende der Zelle, bald unmittelbar am Kerne liegt (Fig. 30, 38). Mitunter kann man statt des einen Kornes zwei dicht nebeneinander befindliche unterscheiden. Bei der Bewegung ist die längere Geißel nach hinten umgebogen und legt sich nicht selten über den Körper des Flagellaten, die kürzere geht nach vorn oder nach der Seite. Die Genese der Geißeln ist prinzipiell die gleiche, wie ich sie oben bei den „großen“ Gymnodinien geschildert habe. Aus dem Caryosom (Centriol) des Kernes entsteht durch Teilung das Basalkorn, das durch weitere Durchschnürungen die Geißelfibrillen bildet. Die mitunter nebeneinander zu beobachtenden zwei Basalkörner machen es wahrscheinlich, daß das vom Caryosom (Centriol) abgelöste Körperchen erst ein zweites bildet, worauf sich beide noch einmal teilen. Aus den Centrodesmosen, zwischen den Teilungshälften, werden die beiden Geißelfibrillen. Ganz sicher sind aber diese Einzelheiten bei der außerordentlichen Kleinheiten der Gebilde nicht zu verfolgen. Da auch

hier die Verbindung zwischen Basalkorn und Caryosom (Centriol) erhalten bleiben kann, so ist die Entstehung der Geißeln aus dem Kern noch nach ihrer Ausbildung nicht selten klar zu sehen (Fig. 31, 37, 39—41).

Infolge der dauernden intensiven Vermehrung der Schwärmer beobachtet man recht häufig Teilungsstadien, und zwar durchschnürt sich der Kern auf mitotische Weise; man kann klare Spindeln mit gut ausgebildeten Polen und Äquatorialplatten beobachten (Fig. 34, 35). Die Chromosome sind natürlich sehr klein und liegen dicht nebeneinander, lassen sich aber doch nicht selten gut auseinanderhalten (Fig. 35); die Pole der Spindel werden von den Centriolen gebildet, die in der Regel von einer Zone chromatischer Substanz (Polkappen, Centroplasmen) umgeben sind. Das Vorhandensein einer typischen Mitose läßt sich aber nur während kurzer Zeit nachweisen: Die Spindelfasern bleiben nicht lange erkennbar, auch die zur Äquatorialplatte angeordnete chromatische Substanz lockert sich auf und wandert zu den Polen; nur eine von Pol zu Pol ziehende Verbindung (Centrodesmose) bleibt noch längere Zeit bestehen, so daß diese späteren Stadien einen etwas einfacheren Teilungsmodus vortäuschen können, wie wir ihn etwa bei den typischen Gymnodinienformen verfolgt haben (Fig. 36, 37). Es finden sich hier also die gleichen Verhältnisse, wie sie von Rosenbusch (1909) für Trypanosomen festgestellt sind, nachdem andere Forscher (Moore und Breinl) durch die von ihnen allein beobachteten Endstadien zur Annahme einer „amitotischen“ Durchschnürung verleitet worden waren.

Aus Bildern wie Fig. 37 geht ferner hervor, daß sich die Spindel mit Äquatorialplatte und Polen wohl nur aus Caryosommaterial aufbaut, da der hier ungewöhnlich große und so gut wie chromatinlose Außenkern trotz des vorgerückten Teilungsstadiums sich noch unverändert erhalten hat. Bei der geringen Größe der Flagellaten ist aber dieser Punkt kaum völlig einwandsfrei klarzustellen. — Die Kernteilung erfolgt fast immer in der Richtung der Längsachse der Zelle (Fig. 35), die beiden jungen Kerne rücken aber dann ungefähr nebeneinander, so daß sie zusammen den größeren Teil des kleineren Durchmessers einnehmen (Fig. 38, 39). Die Zelle teilt sich zwischen ihnen, also der Länge nach, doch schwillt sie vorher häufig so sehr in die Breite, daß eine Querteilung vorgetäuscht werden kann (Fig. 40). Die Durchschnürung des Plasmas erfolgt übrigens so schnell, daß man trotz der intensiven Vermehrung nur selten Stadien von ihr zu sehen bekommt. Die Geißeln mit dem Basalkorn werden entweder von der einen Tochterzelle übernommen (Fig. 40) oder noch

häufiger schon vor Beginn der Teilung abgeworfen (Fig. 34—36) und dann von beiden jungen Zellen in der oben beschriebenen Weise neu gebildet (Fig. 39). Auf jeden Fall sehen wir auch hier eine Bestätigung des besonders nachdrücklich von Prowazek vertretenen allgemeinen Satzes, daß Geißeln (wie fibrilläre Gebilde überhaupt) sich bei der Zelldurchschnürung niemals teilen, sondern entweder unverändert übernommen oder ganz neu gebildet werden. Die Neubildung kann bei den Schwärmern noch vor Ablauf der Kerndurchschnürung beginnen (Fig. 37). Für gewöhnlich erfolgt dann die Loslösung des Basalkornes vom Caryosom bei beiden Kernen in derselben Richtung, und zwar nach dem bei der Bewegung vorderen Pole des Flagellaten hin, von dem auch die ursprüngliche Geißel ausgegangen war. Sehr auffallend ist es nun, daß in einigen, freilich seltenen Fällen (Fig. 41) das Basalkorn und demgemäß auch die Geißeln in entgegengesetzter Richtung gebildet werden, also von dem einen Kern nach vorn, von dem anderen nach hinten. Ein derartiges Verhalten ist wohl noch bei keiner anderen Art beschrieben worden und scheint zunächst gegen jede Polarität von Plasma wie Kern (und Kernteilung) zu sprechen, man müßte denn annehmen, daß sich der eine Kern vor Entstehung des Basalkornes gedreht hat.

Welche Rolle kommt nun den kleinen Schwärmern im Leben von *Gymnodinium fucorum* zu? Wie bei der den Peridineen offenbar nahe verwandten *Noctiluca* handelt es sich um die Frage: sind es Gameten oder Formen, die nach einem Befruchtungsvorgang entstehen? Einwandsfrei läßt sich dies natürlich erst dann entscheiden, wenn der ganze Entwicklungskreis lückenlos bekannt ist. Auf indirektem Wege kann man aber doch schon jetzt zu einem Schluß gelangen: In den Kulturen waren nämlich trotz ständiger Kontrolle niemals Copulationen der Schwärmer zu beobachten, wohl aber lassen sich Übergänge zur Gymnodiniumform feststellen: Die Flagellaten werden größer und runden sich ab, der Außenkern nimmt an Umfang und Chromatingehalt zu. Vor allem aber schwindet das Basalkorn im Plasma und die Geißeln sind ohne Unterbrechung bis ins Caryosom zu verfolgen. Man gelangt also allmählich zu Formen, die in der Mitte zwischen Schwärmern und typischen Gymnodinien stehen (Fig. 33) und sich von letzteren eigentlich nur noch durch die geringere Ausbildung des Außenkerns und eine gewisse Größendifferenz unterscheiden. Die Größendifferenz ist auch nicht sehr erheblich, da Formen, wie die in Fig. 33 wiedergegebene, mitunter größer sind, und andererseits typische Gymnodinien noch bedeutend kleiner als das in Fig. 28 gezeichnete Individuum sein können. Da somit

offenbar ein kontinuierlicher Übergang von den Schwärmern zur gewöhnlichen Gymnodiniumform besteht, so kann es sich hier schwerlich um Gameten handeln. Man darf daher schon jetzt mit großer Wahrscheinlichkeit sagen, daß der auch bei *Gymnodinium* wohl anzunehmende Sexualakt nicht nach, sondern vor der Bildung der Schwärmer erfolgt. Die Schwärmer selbst wären also eine metagame, der raschen Vermehrung der Art dienende Generation.

Damit gewinnt natürlich auch für die Schwärmer der den Peridineen wohl nahe verwandten Gattung *Noctiluca* die alte — später verschiedentlich in Zweifel gezogene — Anschauung Cienkowsky's eine neue Stütze, daß sie im Anschluß an eine Copulation gebildet werden.

II. Marine Ceratiumarten *(C. tripos, C. fusus, C. furca)*.

Kern, Kernteilung und Geißelbildung.

Der Bau und die Teilung des Kernes von Ceratium ist von Lauterborn an *C. hirundinella* genau untersucht worden. Danach schien ein gewisser Unterschied gegenüber den besonders in den letzten Jahren bei einer großen Anzahl von Protozoen beschriebenen prinzipiell gleichartigen Teilungsvorgängen zu bestehen. Wohl zeigte Lauterborn, daß sich auch bei *C. hirundinella* das Chromatin bei der Durchschnürung ziemlich regelmäßig anordnet, aber Teilungscentren (Centriole) beobachtete er nicht.

Nachdem ich nun bei *Gymnodinium* alle Phasen der Kernteilung verfolgen konnte, schien es von besonderem Interesse, auch *Ceratium* zum Vergleich heranzuziehen. Wenn ich aber auch hierbei in einer Hinsicht zu anderen Ergebnissen gelangt bin als Lauterborn, da auch *Ceratium*, wie schon an dieser Stelle erwähnt sei, Centriole besitzt, so ist doch von vornherein besonders zu betonen, daß der hohe Wert der Lauterborn'schen Untersuchung hierdurch in keiner Weise berührt wird. Gerade bei einer eingehenden Nachprüfung muß man die Genauigkeit und Vollständigkeit seiner Beobachtungen immer von neuem bewundern, sind doch selbst die Punkte, wo ich seine Darstellung ergänzen kann, zum größten Teil schon von ihm selbst als weiterer Aufklärung bedürftig hingestellt worden. Daß aber eine Erklärung jetzt möglich war, ist einmal eine Folge der in den letzten Jahren gewonnenen neueren Gesichtspunkte, sodann jedoch auch des Umstandes, daß ich vorher das die fraglichen Ver-

hältnisse weit klarer zeigende, *Ceratium* verwandte *Gymnodinium* untersuchte.

Die Kerne der von mir studierten marinen *Ceratium*-Arten stimmen untereinander und mit dem Kerne von *Ceratium hirundinella* in allen wesentlichen Punkten genau überein. Bei den marinen Formen scheinen nur gewisse Variationen des Baues bei der gleichen Art häufiger und deutlicher hervorzutreten, die offenbar verschiedene zeitlich aufeinanderfolgende Stadien darstellen:

Der ruhende Kern besteht, wie schon BÜTSCHLI und LAUTERBORN zeigten, aus ziemlich großen und hellen Waben, die im optischen Querschnitt als Netzwerk erscheinen. In den „Knotenpunkten" sind zahlreiche kleine Körnchen chromatischer Substanz eingelagert (Fig. 42). Diese Körnchen können nun allmählich immer mehr an Umfang zunehmen, so daß der Kern nur aus einer Menge kleiner unregelmäßiger Brocken oder Kügelchen von Chromatin zu bestehen scheint (Fig. 43, 44), da die verbindenden blassen Wabenwände neben den sich intensiv färbenden Massen verschwinden und mitunter überhaupt nicht mehr nachweisbar sind. Erst von diesem Stadium aus erfolgt offenbar in der Regel die von LAUTERBORN eingehend beschriebene strangförmige Anordnung der Kernsubstanzen, die die Teilung einleitet.[1])

Stets befinden sich in den Kernen ferner ziemlich umfangreiche Kernkörperchen. Es sind dies aber keineswegs dem Caryosom von *Gymnodinium* (und anderen Protozoen) homologe Gebilde, da sie einen ganz anderen Bau besitzen und nicht die wichtige Rolle wie das Caryosom im Leben der Zelle spielen. Vor allen Dingen ist in den Kernkörperchen von *Ceratium* kein Centriol nachweisbar. Demgemäß haben sie auch mit der Kernteilung nichts zu schaffen, wie schon aus der Darstellung und den Figuren LAUTERBORN's hervorging. Klar wird dies ferner durch den Umstand bewiesen, daß ihre Zahl, wie auch LAUTERBORN betont, bereits im r u h e n d e n Kern variiert. Gewöhnlich sind ein oder zwei vorhanden, doch konnte ich bis zu neun zählen (s. auch Fig. 45). Demgemäß sind diese Kernkörperchen auch nicht als „Caryosome", sondern als echte (Plastin)-Nucleolen im Sinne der älteren Autoren zu bezeichnen.

[1]) Auf diese Weise erklären sich auch die von den Angaben LAUTERBORN's etwas abweichenden Befunde anderer Forscher (SCHÜTT, PLATE, ENTZ) über den Bau der Peridineenkerne. PLATE (bei *Pyrodinium bahamense*) und ENTZ (bei Ceratien) haben Stadien beobachtet, die wohl dem in Fig. 49 wiedergegebenen entsprechen; und bei dem „röhrenförmigen" Bau des Kernes nimmt schon ENTZ an, daß es sich um Vorbereitungen zur Teilung handelt.



Möglicherweise besteht aber doch ein gewisser genetischer Zusammenhang zwischen diesen Nucleolen und dem Caryosom von *Gymnodinium*, in der Weise, daß der erste Nucleolus aus einem echten Caryosom durch Ablösung des Teilungsorganells (Centriols) entstanden ist, etwa wie bei *Myxobolus* nach der Darstellung von KEYSSELITZ (1908a) oder bei Hämogregarinen nach neueren Untersuchungen von HARTMANN und CHAGAS.[1]) Im Kerne von *Ceratium* sieht man nämlich nicht allzu selten, und zwar immer dicht neben einem Nucleolus, ein oder zwei sich intensiv färbende kleine Körperchen, die sich von den übrigen chromatischen Körnern etwas abheben. Immerhin ist der Unterschied kein so großer, daß die besondere Natur dieser Körperchen dadurch bewiesen würde.

Anders wird es jedoch bei der Teilung und bei der Geißelbildung. Zur Zeit, wenn das übrige Kernmaterial sich zu Strängen anordnet, erfolgt in gleicher Richtung die Durchschnürung des Körperchens (Fig. 46), dessen Lage im Kern zunächst variieren kann. Erst bei der Teilung der Kernstränge findet man seine gewöhnlich noch nahe beieinander liegenden und durch eine Centrodesmose verbundenen Hälften in der Mitte zwischen den sich trennenden Kernhälften, mit denen sie gleichsinnig auseinanderrücken. Wäre der Massenunterschied zwischen den Kernen und diesen kleinen Körperchen nicht zu groß, so könnte man wenigstens bildlich auch hier oft von einem Aneinanderstemmen des Kernes durch das Teilungsorganell (Centriol) sprechen. Denn daß es sich hier um ein dem Centriol (resp. Caryosom s. u.) von *Gymnodinium* entsprechendes Gebilde handelt, kann nach den Teilungsbildern nicht mehr zweifelhaft sein. Auch hier teilt sich ja dies Körperchen vor der Durchschnürung des Kernes, auch hier kommt es zwischen die beiden neuen Kerne zu liegen, die es gewissermaßen auseinandertreibt, aber andererseits auch noch lange Zeit — durch die Centrodesmose zwischen seinen beiden Hälften — verbindet. Auch hier kann man endlich beobachten, daß bald das Teilungskörperchen, bald der Kern in der Durchschnürung weiter vorgeschritten ist.

Wenn man nun auch, wie die Fig. 46—51 beweisen, auf fast jedem Stadium der Teilung (und der Geißelbildung) das Körperchen feststellen kann, so gelingt ein solcher klarer Nachweis doch nur relativ selten. Wie im ruhenden Kern, so erschweren gleichfalls bei

[1]) Es sei aber betont, daß Fig. 42 noch nicht eine derartige Ablösung des Centriols beweist. Das sich teilende Körperchen liegt vielmehr auf dem Nucleolus, und es handelt sich nur um das erste Stadium der Geißelbildung, das dem in Fig. 43 dargestellten etwas vorangeht.



vielen Teilungsstadien die zahlreichen runden Chromatinbrocken die Erkennung so sehr, daß man nur beim Vorhandensein einer Centrodesmose sichergehen kann. Am klarsten tritt eine solche vor allem während der späteren Phasen (beim Auseinanderrücken der fertigen Kerne) hervor (Fig. 47—49), besonders wenn man nur wenig differenziert, da das Kernmaterial den Farbstoff in der Regel länger festhält (Fig. 50).

In dem prinzipiell wichtigsten Punkte, dem ständigen Vorhandensein die Teilung einleitender Centriole, stimmt also *Ceratium* mit *Gymnodinium* vollkommen überein. Daneben aber haben sich der Kern und die Kerndurchschnürung erheblich weiter entwickelt. Das bei *Gymnodinium* recht ansehnliche Caryosom hat an Bedeutung sehr eingebüßt. Seine wechselnde (mitunter noch immer nicht unbeträchtliche) Größe zeigt, daß es zwar mehr als ein Centriol darstellt, andererseits ist aber wohl sicher ein Teil des sonst zum Aufbau der Caryosome dienenden Materials bei *Ceratium* zur Bildung der Nucleolen verwandt worden. Diese Verhältnisse erinnern daher noch am meisten an das Coccidium, *Adelea Zonula*, bei dem ja auch nach der Darstellung von Moroff neben einem größeren vergänglichen Kernkörperchen ein kleineres kontinuierliches als Teilungsorgan dienendes Gebilde vorhanden ist, das Moroff „Nucleocentrosom“ nennt. Es dürfte wohl am zweckmäßigsten sein, diese Bezeichnung auch hier, wie überhaupt in allen den Fällen anzuwenden, wo außer dem kleinen Teilungsorgane im Kerne noch echte Nucleolen vorhanden sind.

Während das Caryosom eine derartig weitgehende Rückbildung erfahren hat, ist der Außenkern an Umfang und Chromatinreichtum gewachsen. Auch der Teilungsmodus ist bei ihm höher entwickelt, indem seine Substanz bereits in sich ziemlich gleichmäßig durchschnürende Stränge angeordnet wird, wie dies Lauterborn eingehend beschrieben hat (vgl. auch Fig. 46—51). Von echten Chromosomen unterscheiden sich diese Fädchen einmal durch die große Variabilität ihrer Anzahl, sodann auch dadurch, daß sie unter sich noch verbunden sein können, wie denn überhaupt das Wabenwerk auf allen Stadien bis zu einem gewissen Grade erhalten bleibt.

Dagegen ist die bereits bei *Gymnodinium* angebahnte Unabhängigkeit der Durchschnürung des Kerns von der des Caryosoms bei *Ceratium* sehr viel weiter gegangen. Nicht nur bilden und teilen sich die Kernstränge selbständig (ebenso wie die echten Chromosomen!), also häufig auch vor der Teilung des „Nucleocentrosoms“, sondern mitunter können sogar schon die Kernhälften weit aus-

einander gerückt sein, während das Nucleocentrosom noch als einheitliches Körperchen in der Mitte zwischen ihnen liegt. Auf einem derartigen Stadium hat offenbar auch LAUTERBORN einmal das Nucleocentrosom beobachtet und als an ein Zwischenkörperchen erinnerndes Gebilde beschrieben. Nach seiner Abbildung scheint es aber, daß innerhalb des Nucleocentrosoms bereits zwei auseinandergewichene Centriole liegen.

Die sich an die Kernteilung anschließende Zelldurchschnürung zeigt keine wichtigen Besonderheiten und ist gleichfalls von LAUTERBORN geschildert worden.

Von der Geißelbildung konnte ich nur die ersten Stadien nachweisen, da die weiter entwickelten Geißeln beim Konservieren der Ceratien in der Regel verloren gehen und ich kein frisches Material zur Verfügung hatte. Immerhin genügen schon Bilder wie die in Fig. 42—44 dargestellten, um zu erkennen, daß die Geißeln prinzipiell in der gleichen Weise wie bei *Gymnodinium* entstehen. Zunächst wird also vom Nucleocentrosom (Centriol) aus durch Teilung ein Basalkorn gebildet, das mit dem Nucleocentrosom noch lange durch eine Centrodesmose verbunden bleiben kann (Fig. 44). Diese Centrodesmose ist sogar nicht selten von einer Deutlichkeit und Schärfe, wie wohl bei nur wenigen anderen Formen (Fig. 44), so daß auf solchen Stadien natürlich auch das Teilungsorganell besonders einwandsfrei nachgewiesen werden kann. — Späterhin scheint das Basalkorn weiter ins Plasma zu rücken, während die Verbindung mit dem Nucleocentrosom schwindet. ENTZ hat denn auch unlängst angegeben, daß die Geißeln aus Basalkörnern entspringen.

Cystenbildung.

Vor einigen Jahren sind von ZEDERBAUER und später auch von ENTZ Beobachtungen veröffentlicht worden, die für eine Copulation bei *Ceratium hirundinella* zu sprechen scheinen. Beide Forscher sahen zahlreiche Ceratien paarweise durch aus den Panzern heraustretende Protoplasmabrücken verbunden, die sehr an Copulationsschläuche erinnerten. ZEDERBAUER, der die Vorgänge nur im Leben untersuchte, gibt an, daß schließlich eine Copulationscyste (Zygospore) entsteht, deren Weiterentwicklung er nicht beobachten konnte. Er nimmt aber an, daß aus ihr die schon seit längerer Zeit bekannten größeren Ceratiumcysten hervorgehen, über deren Bildung keine genaueren Angaben vorliegen.

ENTZ bearbeitete auch gefärbtes Material, konnte aber trotzdem

die Kernvorgänge, von denen Zederbauer nichts erwähnt, nicht befriedigend aufklären. Bei „conjugierten“ Individuen zeigten die Kerne keinerlei Veränderungen, wohl aber waren nicht selten bei Ceratien „mit Resten des Copulationsschlauches“ zwei Kerne zu sehen. Entz glaubt daher, daß nur der Kern des einen Ceratiums durch die Plasmabrücke in das andere hinüberwandert, daß also „vielmehr eine Art Befruchtung als eine Zygosporenbildung“ stattfindet. Beweise für diese Anschauung hat er eigentlich nicht, wenn man von dem Vorhandensein zweikerniger und kernloser Exemplare mit Resten des „Copulationsschlauches“ absieht, Erscheinungen, die, wie wir sehen werden, eine ganz andere Deutung zulassen.

In konserviertem Plankton, das ich im Dezember vorigen Jahres erhielt, und das von der holländischen Küste sowie aus der Gegend von Borkum stammte, konnte ich gleichfalls, und zwar bei sämtlichen von mir studierten Arten verschiedene Stadien des Austretens des Zellinhalts auffinden. Die Vorgänge sind aber — wenigstens bei den marinen Formen — etwas anders aufzufassen, als es Zederbauer und Entz für *Ceratium hirundinella* annehmen.

Ganz wie bei *Ceratium hirundinella* tritt auch bei den marinen Arten das Protoplasma aus dem Panzer heraus. Stets erscheint es dichter gebaut als bei gewöhnlichen Exemplaren. Häufig, aber nicht immer, enthält es zahlreiche Öltropfen und macht auch selbst den Eindruck, als wenn es aus zahlreichen kleinen Kügelchen bestände. Die Abbildungen Taf. III Fig. 52—54 zeigen — absichtlich bei verschiedenen Arten — das fortschreitende Austreten des Plasmas. Allmählich rückt auch der Kern nach (Fig. 53) und liegt schließlich ebenfalls außerhalb des Panzers. Ungefähr gleichzeitig umgibt sich das hervorgequollene Plasma mit einer sich ständig verstärkenden Membran (Fig. 54), so daß auf diese Weise eine dickwandige und nicht leicht färbbare Cyste entsteht, die anfangs dem nur noch Reste von Protoplasma enthaltenden alten Ceratiumpanzer anliegt, später aber von ihm wohl durch äußere Einflüsse getrennt wird. Die fertige Cyste (Fig. 55) ist rund und entspricht durchaus den runden Cysten, die Zederbauer als „Zygospore“ für *Ceratium hirundinella* abbildet. Ihre Größe variiert bei den verschiedenen Stadien sehr. Da nun aber alle Stadien von Beginn des Plasmaaustritts bis zur fertigen Cyste beobachtet werden konnten, so ist es sicher, daß bei den hier betrachteten marinen Arten die Cysten nicht aus einer Copulation hervorgehen. Ganz selten waren zwar zwei ziemlich fest verbundene Ceratien mit herausgetretenem Plasma zu sehen, doch hatte in solchen Fällen stets jedes der beiden Individuen bereits

eine feste Cystenmembran angelegt, und diese Membranen waren nur äußerlich miteinander verklebt. Auch die Kerne waren auf solchen Stadien unverändert.

Die runden Cysten (Fig. 55) scheinen sich für gewöhnlich längere Zeit wenigstens äußerlich nicht zu verändern und so zu überwintern. In einigen Fällen erfolgt aber schon bald eine Weiterentwicklung; zunächst lockert sich das anfangs recht dichte Plasma allmählich unter Vacuolenbildung auf (Fig. 56), wobei die ganze Cyste gedehnt wird. Sie nimmt erheblich an Umfang zu und wird oval- bis bohnenförmig. Auf diese Weise entstehen also die schon früher bekannten größeren Cysten von *Ceratium* (Fig. 57), deren Abstammung von seinen „Zygosporen" schon Zederbauer annahm. Alsdann treibt das Protoplasma einzelne Fortsätze, die die Cystenmembran entsprechend ausdehnen (Fig. 58) und schließlich durchbrechen, um zu den typischen Ceratiumkörnern auszuwachsen (Fig. 59). Prinzipiell stimmen diese Vorgänge offenbar mit der Keimung der „Dauercyste" von *Ceratium cornutum*, soweit sie von Schilling festgestellt werden konnte, überein. Während der Entstehung der Fortsätze kann man die mannigfachsten Bilder beobachten, die häufig (Fig. 58) an verschiedene Peridiniumarten erinnern, nur daß an Stelle des gegliederten Panzers die ungleich dickere Cystenmembran das Plasma umhüllt. Mit der Ausbildung des jungen Ceratiums ist der Entwicklungskreis geschlossen.

Der ganze Prozeß der Cystenbildung wird bei *Ceratium tripos, fusus* und *furca*, wie wir gesehen haben, sicher nicht durch eine Copulation eingeleitet. In der Cyste spielen sich nun aber Kernteilungsvorgänge ab, die eine Autogamie vermuten lassen. Häufig schickt sich der Kern schon bei seinem Austritt aus dem Panzer zur Teilung an, wie Fig. 53 klar erkennen läßt; ja in einigen Fällen hatte er sich sogar auf Stadien, die dem in Fig. 52 abgebildeten entsprechen, bereits vollständig durchschnürt. Die beiden schon abgerundeten Kerne lagen dann näher beieinander als es bei der gewöhnlichen Teilung zu beobachten ist.

Die Bilder von Entz lassen sich wohl einfacher und ungezwungener in derselben Weise deuten; auch bei ihnen wird es sich nicht um das Eindringen eines fremden, sondern um die Teilung des eigenen Kernes der betreffenden Ceratien handeln, auch nicht um „Reste des Copulationsschlauchs", sondern um den Beginn des Plasmaaustritts.

Daß es sich bei diesen Kernteilungsvorgängen, wenigstens bei den marinen Arten (*C. tripos*, *C. fusus*, *C. furca*), um Autogamie

handelt, kann ich freilich aus Mangel an Material von diesen Stadien vorläufig, wie gesagt, nur vermuten, und zwar gründet sich diese Vermutung vor allem darauf, daß die Cysten während ihrer späteren Entwicklung und bei der „Keimung“ einkernig sind, es muß also wohl wieder eine Kernverschmelzung, d. h. eine Autogamie, erfolgt sein.

Damit soll aber keineswegs in Abrede gestellt werden, daß bei *Ceratium hirundinella* (trotz der von Entz abgebildeten, ebensogut für Autogamie sprechenden Bilder) echte Copulation und Zygosporenbildung vorliegen kann. Ist es doch auch bei den Diatomeen zu beobachten, daß bei nahverwandten Arten teils Amphimixis, teils Autogamie besteht.[1])

Mag es sich nun im einzelnen um Autogamie oder Amphimixis handeln, auf jeden Fall kommt es wohl bei den Ceratien nach einer langen Reihe vegetativer Vermehrungen mit dem Eintritt der kälteren Jahreszeit zu einem Sexualakt und daran anschließend zu einem der Überwinterung dienenden Ruhestadium.

Allgemeiner Teil.

A. Kernteilung.

Die von uns verfolgten Teilungsprozesse bei den Dinoflagellaten sind auch in theoretischer Hinsicht nicht ohne Interesse: Die Untersuchungen der letzten Jahre haben die Aufklärung der Kernteilungsvorgänge bei den Protozoen wesentlich gefördert. Seitdem Hartmann und Prowazek (1907) zuerst auf die Homologie von Caryosom und Centrosom,[2]) sowie auf das Vorhandensein eines Teilungsorganells (Centriols) im Caryosom hingewiesen haben, ist diese Anschauung in ungeahntem Umfange gestützt und bestätigt worden. Konnte man doch bei den verschiedensten Gruppen (Amöben, Heliozoen, Radiolarien, Flagellaten, Coccidien) Centriole nachweisen. In seinem neuen „Lehrbuch der Protozoenkunde“ stellt nun Doflein den „bläschenförmigen Kernen“ der meisten Protozoen, deren Teilung nach dem Typus einer einfachen oder komplizierten Mitose verläuft, die Kerne von „massigem“

[1]) Vgl. M. Hartmann: Autogamie bei Protisten. Arch. f. Protistenk. Bd. 14.

[2]) Der Blepharoplast der „Binucleaten“, der damals von Hartmann u. Prowazek gleichfalls herangezogen wurde, ist nach neueren Untersuchungen (Rosenbusch, Chagas) ein vollständiger Kern, der selbst ein Caryosom enthält, also nicht ohne weiteres mit Caryosom und Centrosom homologisiert werden kann.



Bau gegenüber. Die Teilungsbilder bei den massigen Kernen, zu denen vor allem die Macronuclei der Infusorien und der Kern von *Ceratium* gerechnet werden, sollen „vielfach vollkommen der Amitose bei den Metazoen entsprechen“.

Die vorliegenden Dinoflagellatenuntersuchungen zeigen aber wohl zur Genüge, daß eine derartige äußerliche Einteilung unhaltbar ist, da zwischen der Vermehrung von (generatives Material enthaltenden) massigen und bläschenförmigen Kernen kein prinzipieller Unterschied besteht; konnte doch nicht nur die große Übereinstimmung und nahe Verwandtschaft des typischen massigen Kernes von *Ceratium* mit dem typisch bläschenförmigen von *Gymnodinium*, sondern auch bei beiden das Vorhandensein von Centriolen nachgewiesen werden.

Da ferner Hartmann und Chagas (nach unveröffentlichten Beobachtungen) bei Infusorienkernen gleichfalls ein Centriol feststellten und für die multiple Teilung vor allem die Untersuchungen von Hartmann an Radiolarien und Jollos an Coccidien prinzipiell die gleichen Verhältnisse ergeben haben, so ist schon heute kaum noch daran zu zweifeln, daß jede teilungsfähige und lebenskräftige tierische Zelle, sei es intra- sei es extra nucleär ein dauernd vorhandenes Teilungsorganell (Centriol) besitzt. — Und das Vorhandensein derartiger Centren ist das wichtigste Kriterium, das alle anderen Teilungsformen, so verschieden sie auch sonst entwickelt sein mögen, gegenüber der Amitose mancher dem Untergange geweihter Metazoen-Zellen zu einer Einheit zusammenschließt.

Innerhalb der Gruppe der Peridineen können wir nun aber auch ähnlich wie bei den Englenoideen eine fortschreitende Ausbildung des Kernteilungsmodus erkennen: Bei *Gymnodinium fucorum* sind zwar Centriole vorhanden und die Durchschnürung des Kernes erfolgt ziemlich gleichmäßig, doch ist noch keine besondere Gruppierung der chromatischen Substanz weder beim Caryosom noch beim Außenkern festzustellen. Die Teilung vollzieht sich ungefähr in derselben Weise, wie es in den letzten Jahren für eine Reihe von Amöben, Flagellaten und Coccidien beschrieben worden ist. („Promitose“ Nägler)). Bei *Ceratium* sehen wir neben dem Zurücktreten des Caryosoms eine klare, an Chromosomen erinnernde, Anordnung des Kernchromatins; es fehlt aber noch die Sonderung in vollständig getrennte Stücke von konstanter Zahl. Bei *Gonyaulax* endlich ist dieser letzte Schritt getan, indem (nach Entz) bereits typische sich der Länge nach spaltende Chromosomen ausgebildet werden.

B. Die Beziehungen der Peridineen zu anderen Protisten.

Die genauere Kenntnis des Baues und der Teilungsvorgänge bei den Peridineen gibt auch die Möglichkeit, die Beziehungen dieser Gruppe zu anderen Protozoen etwas klarer festzulegen.

Bei der Besprechung der Teilung von *Gymnodinium fucorum* ist schon auf die Übereinstimmung mit *Oxyrrhis* hingewiesen worden. Diese bisher zu den Cryptomonadinen gestellte Form hat nach den Untersuchungen von Keysselitz (1908) einen Kern, der dem von *Gymnodinium fucorum* vollkommen analog gebaut ist. Auch bei *Oxyrrhis* besteht der gut entwickelte Außenkern aus zahlreichen, regelmäßig angeordneten chromatischen Körnchen; im Innern befindet sich auch hier ein Caryosom (mit deutlichem Centriol), das wie bei *Gymnodinium* mitunter eine Art Membran besitzt, eine Erscheinung, die sonst bisher bei keiner Art beobachtet worden ist. Eine feine Kernmembran kann man dagegen auch bei *Oxyrrhis* nur im Leben sehen. Und wie der Bau, so stimmt auch die Teilung des Kernes bei *Oxyrrhis marina* und *Gymnodinium fucorum* überein, kommen doch selbst die von mir oben geschilderten Variationen bei *Oxyrrhis* fast genau in gleicher Weise vor. Bei einer derartig weitgehenden Übereinstimmung kann man wohl nicht im Zweifel sein, daß *Oxyrrhis* mit *Gymnodinium* sehr nahe verwandt ist und demgemäß zu den Dinoflagellaten gerechnet werden muß. Diese Verwandtschaft wird um so sicherer, wenn man ferner erwägt, daß *Oxyrrhis* sich im Gegensatz zu allen anderen Flagellaten (im engeren Sinne) durch Querteilung vermehrt, ein Verhalten, das aber auch für manche Peridineen angegeben wird.

Oxyrrhis marina wurde bisher zu den Cryptomonadinen gestellt, und bei den Cryptomonadinen vermutete schon Bütschli den Ursprung der Dinoflagellaten. Durch die Aufklärung der Verwandtschaft von *Oxyrrhis* und *Gymnodinium* und besonders durch die Kenntnis der Schwärmer von *Gymnodinium fucorum* gewinnt diese Anschauung eine feste Stütze. Speziell mit *Cyathomonas*, einer Gattung, die Bütschli noch zu den Cryptomonadinen rechnet, die aber nach neueren noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von Hartmann und Chagas einen Übergang von den Protomonadinen zu den Cryptomonadinen bildet, besitzen die Schwärmer in Bau und Teilung des Kernes große Ähnlichkeit. Von hier aus müssen also wohl die Peridineen abgeleitet werden, die sich cytologisch von Proto- und Cryptomonadinen vor allem durch die hohe Entwicklung des Außenkernes und die

allmähliche Rückbildung des Caryosoms unterscheiden, eine Entwicklung, die aber noch bei der Umwandlung der Schwärmer in typische Gymnodinien verfolgt werden kann, und die in der Reihe der Peridineen selbst noch weiter fortschreitet.

Die Beziehungen der Peridineen zu den Flagellaten im engeren Sinne sind damit wohl klargestellt; seit langem glaubten nun aber auch viele Forscher an eine Verwandtschaft mit den Cystoflagellaten. Die vorliegenden Dinoflagellatenstudien bieten hierfür gleichfalls manche Anhaltspunkte: Cytologisch ist eine Ähnlichkeit des Kernbaues und (trotz des Fehlens der „Sphäre“) der Teilungsvorgänge von *Ceratium* mit *Noctiluca* kaum zu verkennen. Noch weit bedeutsamer aber ist das Auftreten kleiner Schwärmer bei *Gymnodinium*, eines Stadiums, das bei keinen anderen Flagellatengruppen in dieser Weise zur Ausbildung gelangt, und das eine Übereinstimmung des Entwicklungskreises von *Gymnodinium* und *Noctiluca* in hohem Maße wahrscheinlich macht.

In bezug auf die äußere Gestalt sind ja auch schon Übergänge von den Peridineen zu den Cystoflagellaten bekannt. So stellt die Gattung *Erythropsis Hertwigi* Peridineen dar, die wie *Noctiluca* ein Flagellum besitzen, und *Pyrocystis* (*Gymnodinium*) *lunula* erscheint besonders nach den Untersuchungen von Dogiel auf manchen Stadien als angeschwollene Kugel, bei der das eigentliche lebendige Plasma nur eine Calotte einnimmt. Bau und Vermehrung erweisen aber diese Art dabei als echte Peridinee.

Der Zusammenhang zwischen Peridineen und Cystoflagellaten ist also schon bei unseren heutigen Kenntnissen ein so enger, daß er wohl auch in systematischer Hinsicht zum Ausdruck gebracht werden muß. Es empfiehlt sich daher beide Gruppen, ähnlich wie es bereits Stein tat, aber Bütschli in seinem Protozoenwerke (bei dem damaligen Wissen mit Recht) verwarf, zu einem dem Flagellaten (Autoflagellaten, Euflagellaten) gleichgestellten Unterstamm zu vereinigen. Diesem kommt dann — also im weiteren Sinne als jetzt üblich — der Name „Dinoflagellaten“ zu, während die beiden Ordnungen, aus denen er besteht, die Bezeichnungen Peridineen und Cystoflagellaten behalten.

Beziehungen der Peridineen zu den Diatomeen (Bacillariaceen), die besonders von botanischer Seite hervorgehoben werden, bedürfen noch der Prüfung. Eine genauere Kenntnis der Befruchtungsvorgänge bei *Ceratium* dürfte wohl auch hierüber Aufklärung bringen.

Literaturverzeichnis.

Die Arbeiten bis zum Jahre 1884 sind in dem Werke von Bütschli angegeben und hier daher nicht mit aufgeführt.

Bonnevie, K. (1908): Chromosomenstudien. Arch. f. Zellforschung Bd. 7.

Bütschli, O. (1883—87): Mastigophora. in: Bronn's Kl. u. Ordn. des Tierreichs Bd. I Abt. 2. Leipzig u. Heidelberg (C. F. Winter).

Doflein, F. (1909): Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena (G. Fischer).

Dogiel, V. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Peridineen. Mitteil. Zool. Station Neapel Vol. 18.

Entz, G. (1909): Über die Organisationsverhältnisse einiger Peridineen. Mathem. u. naturw. Abh. aus Ungarn Vol. 25.

Frosch, P. (1897): Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 21.

Hartmann, M. (1909): Polyenergide Kerne. Studien über multiple Kernteilungen und generative Chromidien bei Protozoen. Biol. Centralbl. Bd. 29.

Hartmann, M. u. Chagas, C. (1910): Flagellatenstudien. Mem. d. Inst. Oswaldo Cruz V. I, 3 (im Druck).

Hartmann, M. u. v. Prowazek, S. (1907): Blepharoplast, Caryosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Keysselitz, G. (1908): Studien über Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

— (1908a): Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

Küster, E. (1908): Eine kultivierbare Peridinee. Arch. f. Protistenk. Bd. 11.

Lauterborn, R. (1895): Protozoenstudien. I. Kern und Zellteilung von Ceratium hirundinella. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 59.

— (1896): Untersuchungen über Bau, Kernteilung und Bewegung der Diatomeen. Leipzig.

Moroff, Th. (1906): Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

Nägler, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Plate, L. (1906): Pyrodinium bahamense n. gen. n. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.

Prowazek, S. v. (1910): Einführung in die Physiologie der Einzelligen. Leipzig (B. G. Teubner).

Rosenbusch, F. (1909): Trypanosomenstudien. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Schaudinn, F. (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaeta. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 20.

Schilling, Cl. (1891): Die Süßwasserperidineen. Flora 1891.

Schütt, F. (1895): Die Peridineen der Planktonexpedition. I. Kiel u. Leipzig 1895.

— (1896): Peridiniales in Engler-Prantl. Die natürlichen Pflanzenfamilien I, 1. Leipzig.

Zederbauer, E. (1909): Geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung von Ceratium hirundinella. Berichte der Deutschen Botan. Ges. Vol. 22.

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind nach gefärbten Präparaten mit Hilfe des ABBE'schen Zeichenapparates in Höhe des Objekttisches entworfen. Vergrößerung, wo nichts anderes angegeben: ZEISS Apochr. Obj. 2 mm und Comp. Oc. 18 = ca. 2600 fach.

Tafel VII.

Gymnodinium fucorum. Cysten.

Färbung bei den in Fig. 1—7, 13, 18, 20 wiedergegebenen Cysten Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN, bei den übrigen DELAFIELD's Hämatoxylin.

Fig. 1. Cyste vor der Teilung mit deutlichem ovalen Centriol.
Fig. 2. Centriolteilung.
Fig. 3. Doppelteilung des Centriols (die Struktur des Außenkernes ist nicht genau eingezeichnet).
Fig. 4—7. Teilung des Caryosoms.
Fig. 8—11. Teilung von Caryosom und Außenkern.
Fig. 11. Beginn der Plasmadurchschnürung (deutliche Centrodesmose noch vorhanden).
Fig. 12—13. Vollendung der Zellteilung.
Fig. 12 (rechts). Beginn der Geißelbildung.
Fig. 14—18. Teilung des Cysteninhalts in vier Zellen.
Fig. 19. Der eine Kern teilt sich von neuem, der andere bei der Geißelbildung.
Fig. 20. Heteropole Kernteilung.

Tafel VIII.

Gymnodinium fucorum.

Färbung: Eisenhämatoxylin, nur Fig. 25 u. 27 DELAFIELD's Hämatoxylin.

Fig. 21—22. Cysten mit Öltropfen.
Fig. 23. Ältere Cyste mit deutlicher Protoplasmastruktur.
Fig. 24—28. Verschiedene Stadien der Geißelbildung.
Fig. 29. Flagellatenform.
Fig. 30—41. Schwärmer.
Fig. 30—32. Verschiedene Formen der Schwärmer.
Fig. 33. Übergang zur typischen Gymnodiniumform.
Fig. 34—37. Kernteilung.
Fig. 34 u. 35. Deutliche Teilungsspindel.
Fig 36 u. 37. Späteres Stadium (scheinbare „Promitose").
Fig. 38. Die Kerne nebeneinander gerückt.
Fig. 39. Neubildung der Geißeln (auch Fig. 35).
Fig. 40 Zellteilung.
Fig. 41. Geißelbildung in verschiedener Richtung.

Tafel IX.

Ceratium.

Färbung: Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN.

Vergrößerung: Fig. 42—51 ZEISS Aprochr. Obj. 2 mm und Comp. Oc. 12 (nur Fig. 42 Comp. Oc. 18). Fig. 52—54 ZEISS Apochr. Obj. 3 mm Comp. Oc. 8.

Fig. 46. Kern von *C. fusus*, die übrigen Kerne von *C. tripos.*
Fig. 42—46. Verschiedene Stadien des Kernes.
Fig. 42—44. Beginn der Geißelbildung.
Fig. 45. Zahlreiche Nucleolen im Kern.
Fig. 46. Beginn der Kernteilung, das Nucleocentrosom bereits geteilt.
Fig. 47—51. Weitere Stadien der Kernteilung.
Fig. 52—54. Cystenbildung.
Fig. 52. *Ceratium tripos.*
Fig. 53. *Ceratium fusus* (der Kern schickt sich zur Teilung an).
Fig. 54. *Ceratium furca* (Cystenmembran bereits ausgebildet).

Tafel X.

Ceratium.

Färbung: DELAFIELD's Hämatoxylin.

Vergrößerung: ZEISS Achrom. Obj. DD und Comp. Oc. 8.

Fig. 55. Fertige Cyste.
Fig. 56. Beginn der Dehnung und Vacuolisierung der Cyste.
Fig. 57. Weitere Ausbildung der Cyste.
Fig. 58 u. 59. Die Entstehung neuer Ceratien.



Studien zur Naturgeschichte der Protozoen.

VI. Experimentelle Studien über die Trypanosomen des Frosches.

Von

F. Doflein.

(Hierzu Tafel XI—XIII und 1 Textfigur.)

I.

Die zahlreichen Theorien, welche zur Deutung der bei den Trypanosomen beobachteten Erscheinungen aufgestellt worden sind, haben in mir den Wunsch geweckt, aus eigener Anschauung eine Anzahl dieser interessanten Protozoenformen kennen zu lernen. Ich habe nun im Verlauf der letzten Jahre versucht, in möglichst unvoreingenommener Weise verschiedene Formen genauer zu studieren und die über sie publizierten Tatsachen nachzuprüfen. Ich bin dabei auf manche unbekannte oder bisher wenig beachtete Vorgänge gestoßen, welche mir der Mitteilung wert erscheinen.

Die Trypanosomenforschung ist so sehr von Hypothesen durchsetzt, daß es schwer ist, die beobachteten Tatsachen zu beschreiben, ohne Ausdrücke zu benützen, welche durch hypothetische Anschauungen bedingt sind. Ich versuche es jedoch, zunächst einmal die von mir beobachteten Tatsachen in möglichst einfacher, theoriefreier Weise darzustellen; erst in einem der späteren Beiträge will ich die theoretischen Anschauungen erörtern und dann auch erst auf die Literatur eingehen, soweit sie sich mit den von mir hier behandelten Fragen direkt berührt.

Im Blute des Grasfrosches (*Rana esculenta*) kommen verschiedene Trypanosomenformen vor, welche von den meisten neueren Autoren



für verschiedene Arten gehalten werden. Die eine davon ist kurz und plump und besitzt in der Regel gar keine freie Geißel, die andere der beiden häufigsten Formen ist langgestreckt und besitzt eine wohlausgebildete Geißel. Es liegen keine bündigen Beweise vor, daß diese beiden Formen wirklich selbständige Arten sind, und auch für die anderen aus den Fröschen beschriebenen Trypanosomen ist ein solcher Nachweis nicht erbracht. Es lag daher nahe, eine andere Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen.

Für zahlreiche der pathogenen Trypanosomen nehmen viele Untersucher das Vorkommen geschlechtlicher Differenzierung an, es sind männliche, weibliche und indifferente Formen beschrieben worden. Diejenigen Individuen, welche man als weiblich auffaßt, sind durch Reichtum an Reservestoffen und geringe Ausbildung des Bewegungsapparates gekennzeichnet. Umgekehrt sind die als Männchen aufgefaßten Individuen durch Armut an Reservesubstanzen und hohe Entwicklung der Bewegungsorganellen ausgezeichnet.

Das sind aber gerade die Eigenschaften, welche jeweils das eine der beiden großen Froschtrypanosomen charakterisieren. Diese Froschblutparasiten besitzen aber noch eine Eigentümlichkeit, welche unsere Aufmerksamkeit herausfordert. Die Auffassung, daß jene differenten Formen bei den Trypanosomen einer geschlechtlichen Differenzierung entsprächen, war durch die Erfahrungen an Hämosporidien veranlaßt worden. Bei diesen sind die als Geschlechtsindividuen sicher nachgewiesenen Formen der Teilungsfähigkeit verlustig gegangen. Nun haben wir es im Froschblut auch mit Formen zu tun, welche sich selten oder gar nicht mehr zu teilen scheinen. Auch üben sie kaum einen schädigenden Einfluß auf ihren Wirt aus, so daß die Annahme angebracht ist, daß es sich um Individuen handelt, welche von einer ursprünglich intensiveren Infektion übrig geblieben sind und im Organismus sozusagen auf den Augenblick warten, in welchem sie befreit werden und eine neue Lebenstätigkeit beginnen können.

Eine solche Deutung wurde auch durch experimentelle Erfahrungen begünstigt. Durch Bouet war gezeigt worden, daß das Froschtrypanosoma sich ebenso wie viele andere Trypanosomen auf künstlichen Nährböden kultivieren läßt. Bei seinen Versuchen hatte sich die lange nicht gebührend gewürdigte Tatsache herausgestellt, daß das Froschtrypanosoma sich in den Kulturen in einen außerordentlich kleinen Organismus umwandelt. Die Zwischenstufen der Umwandlung waren nicht beobachtet worden.

Es war daher folgende Annahme nicht ohne Berechtigung: die

beiden im Froschblut vorkommenden großen Trypanosomen sind die männliche und weibliche Geschlechtsform, welche eine verminderte oder vollkommen erloschene Teilungsfähigkeit an der Vermehrung hindern. In der künstlichen Kultur gehen an diesen Individuen Veränderungen vor sich, die denjenigen entsprechen, welche die Malariaparasiten im Darm der Stechmücken durchmachen. Die großen Individuen wandeln sich in irgendeiner Weise in Gameten um, aus denen dann die ungeheuer rasch sich vermehrenden kleinen Individuen hervorgehen.

Eine genaue Untersuchung der Vorgänge mußte sich also in jedem Falle lohnen, denn wenn auch die gemachte Annahme sich etwa nicht bestätigte, so mußte doch einige Aufklärung gewonnen werden für die merkwürdige Tatsache, daß das Trypanosoma im Froschblut so riesig groß wird, aber sich nicht mehr teilt, während es in der künstlichen Kultur sich so rapid vermehrt, ohne dabei die ursprüngliche Größe wieder zu erreichen.

Ehe ich nun auf die eigentlichen Resultate meiner Trypanosomenuntersuchungen eingehe, möchte ich eine kleine Voruntersuchung kurz erwähnen, die ich zur Klärung einer Frage unternahm, welche eventuell das Gesamtresultat beeinflussen konnte. In den einheimischen Grasfröschen kommt fast noch häufiger als das Trypanosoma ein Parasit der roten Blutkörperchen vor, *Lankesterella minima* CHAUSSAT. Dieser kleine Parasit kriecht in dem Blute, welches man auf dem Objektträger untersucht, sehr bald aus den Blutkörperchen aus und bewegt sich nach Art einer Gregarine umher. Das Tier ist ungefähr gerade so groß wie die in Kulturen auftretenden Trypanosomen. Bekanntlich haben zahlreiche Autoren angenommen, daß die bei verschiedenen Wirbeltieren gleichzeitig nachgewiesenen Hämogregarinen und Trypanosomen in den Entwicklungscyclus einer Art gehörten. Es war daher die Annahme nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, daß bei den Kulturen aus dem Froschblut die Kulturtrypanosomen durch Umwandlung aus den Lankesterellen entstanden seien. Gar nicht selten kommen *Trypanosoma* und *Lankesterella* gleichzeitig in dem gleichen Frosch vor, oft allerdings die eine Art so spärlich, daß man sie nur bei Untersuchung zahlreicher Ausstriche findet. Wie das überhaupt bei den Blutparasiten öfter vorkommt, hätte sich ja die in den Kulturen häufige Form infolge für sie günstiger Bedingungen aus der im Blut spärlich vorhandenen Form entwickelt haben können. Man konnte also nicht von vornherein mit Sicherheit behaupten, daß die kleinen Trypanosomen der Kulturen von den großen Formen des Froschblutes herstammten.

Ich wandte nun zur Anlage der Kulturen mehrfach Blut aus solchen Fröschen an, welche mit den beiden Parasiten *Lankesterella* und *Trypanosoma* ziemlich gleichmäßig stark infiziert waren. In den ersten Tagen wurde nun Flüssigkeit aus den Kulturen in kurzen Zeitabständen untersucht. Es zeigte sich, daß auch auf dem Nährboden die Lankesterellen aus den Blutkörperchen auskrochen und sich lebhaft umherbewegten. Manchmal glaubte ich am vorderen Ende des Körpers die Ansätze zur Entwicklung einer Geißel wahrzunehmen. Stets aber stellte sich bei genauerer Untersuchung heraus, daß es sich um feine Gallertfädchen handelte, welche beim Rückwärtskriechen der Lankesterellen an deren Vorderende hängen geblieben waren und bei deren Bewegungen nunmehr in Vibration gerieten. Bei den Lankesterellen ist es gar nicht schwer zu beobachten, daß sie bei der Bewegung ähnlich wie die Gregarinen eine gallertige Spur hinterlassen. Auf dieser Spur können sie sich manchmal lebhaft hin und her bewegen, vorwärts und rückwärts, beim Weiterkriechen bleibt dann nicht selten etwas von dieser Gallerte an ihrem Körper hängen. Naturgemäß geschieht das häufiger am Hinterende, dann kann es aber kaum zu Täuschungen Anlaß geben.

Die aus den Blutkörperchen befreiten Lankesterellen leben in den Kulturen tagelang. Sie zeigen aber während dieser Zeit keinerlei auffällige Veränderung an ihrem äußeren Umriß oder in ihrem inneren Bau. Hier und da waren an einem Individuum in den gefärbten Präparaten eigenartige Veränderungen zu bemerken, Knäuel und Stäbchen von stark färbbarer Substanz traten im Plasma auf. Ich halte diese Veränderungen ihrem ganzen Charakter nach nicht für Anzeichen einer Weiterentwicklung, sondern für Degenerationsmerkmale der absterbenden Tiere. Längst sind schon an den in der gleichen Kultur befindlichen Trypanosomen die gleich nachher zu schildernden Veränderungen vor sich gegangen, die Kultur beginnt schon sich mit den kleinen Trypanosomen zu erfüllen, wenn die Lankesterellen allmählich ihre Beweglichkeit verlieren und absterben.

Diese Tatsachen beweisen, daß die Lankesterellen in der Regel in den künstlichen Kulturen keine Weiterentwicklung erfahren. Es wäre ja nicht ganz ausgeschlossen, daß dies nur für die gewöhnlich vorhandenen Stadien gilt und daß nur etwa besondere Stadien zu einer Umwandlung und Weiterentwicklung fähig wären. Diese Annahme würde aber nicht zur Ableitung der Kulturtrypanosomen von Lankesterellen berechtigen. Denn die in den Kulturen sich entwickelnden Trypanosomen waren in den von mir untersuchten Fällen

schon sehr bald in so großer Zahl vorhanden, daß sie unmöglich von den wenigen etwa übersehenen geschlechtlichen Stadien der Lankesterellen abstammen konnten.

Einen viel direkteren Nachweis für die Abstammung der Kulturtrypanosomen liefern aber die sogleich zu berichtenden Tatsachen.

Es ist mir nie gelungen, auf dem Objektträger unter dem Mikroskop die Fortpflanzung der großen Trypanosomenformen im Froschblut direkt zu beobachten. Ich habe viele Versuche zu diesem Zweck unternommen, zunächst Versuche mit dem ungemischten Blut, da in diesem erfahrungsgemäß die Trypanosomen tagelang am Leben bleiben. Sie erleiden ja während dieser Zeit interessante Veränderungen, über welche ich weiter unten in einem anderen Zusammenhange berichten werde. Aber sie vermehren sich in der Regel nicht. Auf Ausnahmen weisen allerdings einige Beobachtungen von França u. Athias und Dutton u. Todd und vor allem die älteren Angaben von Danilewsky hin.

Dann habe ich ebenfalls häufig Versuche gemacht, die Umwandlung im Blut zu beobachten, welches ich auf gut sterilisierten Objektträgern mit steriler Kulturflüssigkeit in verschiedenen Verhältnissen gemischt hatte. Es ist nicht leicht, eine derart angelegte Kultur unter dem Deckglas steril zu erhalten. In den meisten Proben entwickelten sich zahlreiche Bacterien, und im Zusammenhang damit starben die Trypanosomen bald ab. In denjenigen, welche steril blieben, erfuhren die Trypanosomen keine anderen Veränderungen als im ungemischten Blut. Sie gingen zugrunde, ohne sich vermehrt zu haben, oft allerdings erst nach Verlauf vieler Tage. Da, wie wir später sehen werden, die Kulturtrypanosomen sich besonders im Anfang hauptsächlich an der Oberfläche des Nährbodens entwickeln, so vermutete ich, daß das Unterbleiben der Weiterentwicklung auf Sauerstoffmangel zurückzuführen ist. Ich habe eine Anzahl Kulturen auf hohlgeschliffenen Objektträgern oder auf Deckgläsern versucht, welche derart unterstützt waren, daß unter ihnen ein Luftraum blieb. Von den zahlreichen in dieser Weise angelegten Kulturen trockneten die meisten sehr rasch ein. Die übrigen, bei denen ich in diesem Luftraum für eine feuchte Luft zu sorgen versuchte, blieben nicht steril und ich hatte somit in dieser Richtung gar keinen Erfolg.

Eine andere Methode führte mich jedoch zum Ziel. Ich hatte Blut aus stark mit *Trypanosoma rotatorium* infizierten Fröschen in Reagensgläser mit Blutagar gebracht. Dieser Blutagar war nach dem Rezept von Novy angefertigt und enthielt ebensoviel Blut als

Agargemisch. Von dieser Kultur entnahm ich nun in den beiden ersten Tagen regelmäßig im Abstand von wenigen Stunden kleine Proben und untersuchte dieselben in lebendem und konserviertem Zustande. Dabei stellte sich heraus, daß die großen Trypanosomen sich durch Teilung in kurzer Zeit zu vermehren begannen. Manche Individuen teilten sich in freibeweglichem Zustand zunächst in zwei Teile (Fig. 93), welche sich dann weiter teilten. Andere teilten sich, nachdem sie in eine Art von Ruhezustand übergegangen waren. In diesem Fall waren die betreffenden Individuen von einer gallertigen oder schleimigen, zarten Hülle umgeben. Sie rundeten sich ab, teilten sich manchmal zunächst in zwei Teile, von denen jeder sich sodann selbständig weiter teilte, oder sie teilten sich sofort in Rosettenform. Das letztere will heißen, daß Kern und Blepharoplast sich in zahlreiche Abkömmlinge geteilt hatten (4, 8, 12, 16), ohne daß der Körper vollkommen zerfallen gewesen wäre. Man sah sehr häufig typische Rosetten, bei denen entsprechend der Zahl der Kerne der Plasmakörper birnförmige Zipfel gebildet hatte, während die centrale Masse des Körpers noch einheitlich war (Fig. 89—91). Die Zahl der birnförmigen Zipfel entsprach der Zahl der Kerne, doch waren in manchen zwei Blepharoplaste vorhanden und der Kern schickte sich zu einer neuen Teilung an. Solche Teilindividuen, welche zwei Blepharoplaste haben, sind gewöhnlich dicker als die übrigen und gehören Rosetten an, welche unregelmäßige Zahlen von Teilindividuen umfassen. Nicht immer erfolgt die Teilung in dieser regelmäßigen Weise. Durch die Teilungsvorgänge wird nicht selten das Körperplasma in unregelmäßige Portionen zerklüftet, welche sich dann weiter teilen. Zum Schluß resultiert jedoch aus diesen verschiedenen Teilungsvorgängen meist ein Klümpchen von ungefähr gleich großen jungen Individuen. Während der Teilungsvorgänge waren an ihnen keine Geißeln wahrnehmbar. Die Teilprodukte, welche anfangs ziemlich unregelmäßige Formen besaßen, wie sie aus den verschiedenen Figuren (Fig. 86—91) ersichtlich sind, waren zum Schluß etwa oval oder birnförmig geworden.

Nachdem die Individuen sich vollkommen voneinander losgelöst haben, werden sie kuglig und bei einem nach dem anderen tritt eine feine kurze Geißel hervor, welche sofort lebhaft zu schlagen beginnt (Fig. 87).

Aus den Beobachtungen, die weiter unten angeführt werden sollen, geht hervor, daß die kompliziert gebauten großen Trypanosomen des Froschblutes ihre verschiedenen Körperdifferenzierungen, nachdem sie in die Kulturflüssigkeit gebracht worden sind, verlieren

können. Der Körper kugelt sich ab, wird gleichmäßig granuliert, die Geißel geht verloren, ebenso die undulierende Membran und die Differenzierungen des Ectoplasmas. In dieser einfachen Plasmakugel beginnen die Teilungen von Kern und Blepharoplast. Das Ganze furcht sich ab wie ein tierisches Ei. Jedes der entstandenen Teilprodukte stellt eine kleine Kugel dar, in deren Innern sich ein feinwabiges Protoplasma erkennen läßt. Stärker lichtbrechende Granulationen, feinste Tröpfchen und kleine und größere Vacuolen sind sichtbar. Am lebenden Tier sind oft Kern und Blepharoplast ohne weiteres nachzuweisen.

Diese kleinen Kugeln strecken sich dann bald in die Länge und werden zu kleinen Flagellaten, welche sehr abweichend von dem Muttertier, von dem sie abstammen, gebaut sind. Die Mehrzahl von ihnen gleicht durchaus den Angehörigen der Flagellatengattung *Herpetomonas.* Sie haben ungefähr Spindelform, sind am hinteren Ende zugespitzt, meist am vorderen Ende etwas verbreitert und zeigen hier eine kräftige Geißel, welche an der Basis oft mit einer ganzen Portion Protoplasma überzogen ist. Mit dieser Geißel voraus lösen sich die Trypanosomen bald von dem Haufen los und schwimmen in dem Kulturmedium umher. Es ist infolgedessen bald nicht mehr möglich, das einzelne Tier zu verfolgen und seine Weiterentwicklung zu beobachten. Das gleiche gilt für die Formen, welche sich von vornherein im freibeweglichen Zustand zu teilen beginnen. In den ersten Tagen findet man in den Kulturen immer noch größere Individuen, zuerst von der Normalgröße der im Blut des Frosches vorkommenden Individuen, ferner solche von $^1/_2$ oder $^1/_4$ der Normalgröße, welche aber noch die Gestalt und den inneren Bau der Froschtrypanosomen besitzen. Erst wenn sie sich zu noch kleineren Bruchstücken weiter geteilt haben, treten auch bei ihnen die sogleich zu schildernden Umwandlungen ein.

Die genaue Untersuchung zahlreicher Kulturen führt nämlich bald zu einem sehr interessanten Resultat; es stellt sich heraus, daß stets nach kurzer Zeit in jeder Kultur sich Individuen von sehr verschiedener Form und Beschaffenheit vorfinden. Ich führe zunächst eine Kultur als Beispiel an. Ich hatte am 9. Dezember 1908 eine Kultur frisch aus Froschblut angesetzt; diese Kultur wurde mit der Nummer 2 bezeichnet. Sie enthielt bereits am 12. Dezember zahlreiche kleine Trypanosomen, von denen die einen gedrungen, zum Teil sogar kuglig waren, während die anderen lang und schlank waren und eine relativ lange freie Geißel besaßen. Während der weiteren Kultivierung stellten sich immer beträchtlichere Unter-

schiede zwischen den verschiedenen Individuen heraus, so daß es mir sehr der Mühe wert erschien, die einzelnen Formen genauer zu studieren. Ich legte im Lauf der Zeit noch eine große Anzahl ähnlicher Kulturen an, welche alle zu demselben Resultat führten.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit besonders im Interesse derjenigen zoologischen Kollegen, welche weniger mit den bakteriologischen Methoden vertraut sind, einige Bemerkungen über die Anlage und Pflege derartiger Kulturen einfügen. Ich habe schon oben bemerkt, daß ich Nährböden verwandte, welche nach dem Rezept von Novy bereitet waren; ich verwandte mit Vorliebe Reagensröhren, in denen sich reichlich Kondenswasser gebildet hatte, da in solchen besonders im Anfang die Kulturen sehr lebhaft wachsen. Schon nach wenigen Tagen waren in solchen Kulturen sehr zahlreiche kleine Trypanosomen vorhanden und bei längerer Kultur drangen sie, wie schon durch eine ganze Anzahl von Beobachtern früher festgestellt worden war, auch in den festen Nährboden ein. Immerhin vollzog sich die intensivste Vermehrung an der Oberfläche entlang, und selbst bei langer Kultur drangen die Trypanosomen nicht immer bis in die Tiefe des Nährbodens ein. Beim Überimpfen aus solchen Kulturen auf frische Nährböden stellte sich heraus, daß Kulturen, welche schon längere Zeit in relativ festem Nährboden sich entwickelt hatten, ganz besonders gut weiter wuchsen, wenn sie wieder auf feste Nährböden mit wenig Flüssigkeit gebracht wurden.

Die Kulturen entwickelten sich monatelang weiter. Die vorhin erwähnte Kultur 2 z. B. wuchs ohne Überimpfung monatelang weiter. Den Höhepunkt der Entwicklung erreichte sie nach 6—8 Wochen. In der Zeit zwischen dem 14. Januar und dem 1. Februar 1909 war die ganze Kulturmasse von einer unendlichen Menge von Trypanosomen durchsetzt. Es war eine vollkommene milchige Trübung des gesamten Kulturmediums durch die Massen der Trypanosomen herbeigeführt. Die gleiche Massenhaftigkeit zeigte sich in den Ablegerkulturen, die von der Kultur 2 auf neuen Nährböden angelegt worden waren. So war eine Kultur B 9 am 1. März 1909 an der ganzen Oberfläche mit schimmelartigen Flecken bedeckt, welche fast ausschließlich aus einem Brei von Milliarden von Trypanosomen bestanden. Später nahm bei weiterer Fortführung der Kulturen die Zahl der Trypanosomen wieder ab, es fanden sich in ihnen zahlreiche degenerierende Individuen; eine Tendenz zur Bildung von Agglomerationsrosetten war unverkennbar. An Stelle der trypanosomenähnlichen und spirochätenähnlichen Stadien traten immer mehr kurze und

plumpe Formen. Am 5. Mai 1909 waren in Kultur 2 keine beweglichen Trypanosomen mehr vorhanden. An ihrer Stelle fanden sich nur abgekugelte Ruheformen. Trotzdem gelang es, aus dieser Kultur 2 noch am 8. Juni 1909 eine Zweigkultur anzulegen, welche sich sehr gut entwickelte. Im September 1909 war allerdings die Kultur 2 vollkommen ausgestorben. Es wird später zu erörtern sein, auf welche Gründe dies Aussterben zurückzuführen ist.

Es ist nicht ganz leicht, die Blutagarkulturen dauernd steril zu erhalten. Schon bei der Anlage sind Verunreinigungen oft schwer zu vermeiden. Es scheint, daß sogar im Blut der Kaninchen einzelne Bacterien gelegentlich vorhanden sind, welche oft erst relativ spät mitten im Agar zu wachsen beginnen. Es ist daher sehr notwendig, daß man die Kulturgläschen vor der Impfung eine Zeitlang im Brutschrank aufbewahrt hat. Doch muß man mit Sorgfalt darauf achten, daß bei dieser Gelegenheit nicht zu viel Kondenswasser verdunstet. Auch später muß man, wenn man die Kulturen so lange Zeit fortsetzen will, dafür sorgen, daß der Nährboden nicht zu sehr austrocknet. Dies erreicht man am besten, indem man die Reagensröhren mit Gummikappen verschließt. Auch tut man gut daran, die Kulturen in einem verschließbaren Glas- oder Metallkasten bei einer Temperatur von ca. 15° C aufzubewahren, damit sie vor Staub und anderen Verunreinigungen gesichert sind. Im allgemeinen ist es nicht gut, die Atmosphäre, in welcher sie aufbewahrt werden, künstlich feucht zu erhalten, da sonst sehr leicht Schimmelkeime durch die Wattepfropfen hindurch wachsen.

Wenn man zur Untersuchung aus dem Kulturglas kleine Proben entnimmt, so muß man mit allen Vorsichtsmaßregeln vorgehen. Es ist ja selbstverständlich, daß man nur ausgeglühte Platinösen zur Entnahme verwendet, daß man den Wattepfropf vor dem Verschließen stets abbrennt; es ist aber auch notwendig, die ganze obere Region des Glases nach dem jemaligen Entnehmen stark zu erhitzen.

Trotz aller dieser Vorsichtsmaßregeln gehen immer wieder Kulturen durch Verpilzung oder Bacterienentwicklung zugrunde. Vielfach genügt das Vorhandensein einer ganz kleinen Schimmelkolonie oder eines schwachen Bacterienwachstums, um die Entwicklung der Kultur zu hindern. Den verschiedenen Bacterienarten gegenüber verhalten sich allerdings die Trypanosomen verschieden. Während in den meisten Fällen, wie erwähnt, geringe Bacterienmengen den Tod der Kulturtrypanosomen zur Folge hatten, machte ich mit einigen Kulturen andere Erfahrungen. Am 21. Juni 1909 fand ich

in Kultur 14 zahlreiche kurzstäbchenförmige Bacterien. Trotz der kolossalen Entwicklung derselben lebten neben ihnen die Trypanosomen über 8 Tage lang und vermehrten sich zunächst sehr gut. Dann gingen sie jedoch zugrunde. Die gleiche Erfahrung machte ich mit einer anderen Kultur im November 1909 (Kultur 18), in welcher zahlreiche Coccen sich entwickelt hatten.

Kehren wir zur Betrachtung der Kulturtrypanosomen zurück. Wir haben oben die große Verschiedenartigkeit der in einer Kultur vorhandenen Individuen konstatiert. Die Textfigur A gibt ein



Textfig. A.

Tröpfchen wieder, welches am 5. Januar 1909 der Kultur 2 entnommen war. Da sieht man breite, dicke, fast geißellose Trypanosomen, von fast amöboidem Umriß; daneben solche von ähnlicher Form aber mit langer schlanker Geißel, weiter solche, die voll-

kommen einer *Herpetomonas* gleichen. Manche von diesen zeigen merkwürdige kolbige Anschwellungen bald am vorderen, bald am hinteren Ende des Körpers, manche haben lange, manche kurze, manche gar keine Geißeln. Schließlich finden sich sehr schlanke Formen und diese leiten uns über zu Individuen, welche vollkommen einer Spirochäte in dem äußeren Aussehen des Körpers und in dessen Formveränderlichkeit gleichen. Ferner können wir bei einer solchen lebenden Kultur sehr große Verschiedenheiten in dem Reichtum der einzelnen Formen an Granulationen des Plasmas konstatieren. Dicke und dünne Formen können reich oder arm an Granulationen sein, wie das die Figur sehr deutlich zum Ausdruck bringt.

Wir haben also hier in der Kultur die gleichen Formverschiedenheiten vor uns, welche zu den interessanten theoretischen Deutungen Anlaß gegeben haben, von denen wir in der Einleitung gesprochen haben. Ehe wir auf ihre Bedeutung eingehen, wollen wir die einzelnen Formen und ihren Bau einer etwas eingehenderen Beschreibung unterziehen. Bei der Fülle und Vielgestaltigkeit der Formen können wir jedoch nur die Haupttypen genauer besprechen.

1. Blattförmige Individuen. Sehr häufig sind in frischen Kulturen neben den kugeligen und ovalen Formen (Taf. XI Fig. 1—3), die sehr rasch die Form zu wechseln vermögen, breitblattförmige Individuen, welche am Vorderende breiter sind als am Hinterende. Sie gehören dem *Herpetomonas*-Typus an, denn sie haben keine undulierende Membran (Taf. XI Fig. 4—7). Die Geißel entspringt an dem in der Regel spitz zulaufenden Vorderende und ist entweder von der Basis an ziemlich gleichmäßig dünn oder sie ist noch im basalen Teil vom Protoplasma überzogen (Fig. 4). Beim lebenden Exemplar erkennt man in der Nähe des Vorderendes den stark lichtbrechenden Blepharoplasten und ziemlich nahe hinter ihm den Kern. Der ganze Körper ist mit Granulationen erfüllt, welche bald gleichmäßig im ganzen Plasma verteilt sind, bald am Vorder- oder Hinterende etwas stärker angehäuft erscheinen. Solche Individuen haben eine Länge von 20—25 μ und eine größte Breite von 8—10 μ.

Ihnen sehr ähnlich sind Formen, deren Körper am Vorderende breit abgestutzt ist, so daß die Geißel sich fast rechtwinklig von ihrer Oberfläche abhebt. Die Geißel ist bei solchen Formen stets gleichmäßig dünn von der Stelle ihres Ursprungs an (Taf. XI Fig. 5). Bei solchen Individuen ist in der Regel das Vorderende ganz klar. In dem durchsichtigen Plasma kann man nicht selten die Fortsetzung der Geißel selbst beim lebenden Tier bis tief in das Innere des Körpers verfolgen. Die charakteristischen Granulationen sind fast

ausschließlich im hinteren Teile des Körpers angehäuft, welcher dadurch sich sehr stark von dem vorderen Teile abhebt. Nach vornhin setzen sich die Granulationen hauptsächlich am Rande des Körpers entlang fort, dort bilden sie oft nur eine ganz dünne Reihe.

Auf konservierten Präparaten zeigen die Individuen dieses Typus sehr häufig Anzeichen beginnender Teilung. Nicht selten sind die Blepharoplasten verdoppelt, die Geißel an der Basis gespalten und die Kerne in Spindelbildung.

2. Spindelförmige Individuen. Auch die spindelförmigen Individuen gehören zum *Herpetomonas*-Typus, sie sind schlanker als die bisher besprochenen Formen, aber auch sie zeigen keine deutliche Ausbildung einer undulierenden Membran (Fig. 8—12, 18). Sie sind an beiden Enden des Körpers zugespitzt, besonders am Vorderende. An diesem geht der Körper ganz allmählich in die Geißel über, nicht selten ist ein erheblicher Teil Plasma wie ein Überzug über die Basis der Geißel gezogen und indem er bei den Bewegungen lamellenartig ausgezogen wird, entstehen die Ansätze zur Bildung einer undulierenden Membran. Doch ist diese stets sehr kurz, da bei diesem Typus der Kern ebenfalls weit vorn im Körper gelegen ist, und da der Blepharoplast, an welchem der Centralfaden der Geißel endet, noch vor ihm liegt. Oft sind die Individuen dieses Typus lamellenartig dünn. Bei ihrer Bewegung können sie eine Tendenz zu spiraliger Rotation zeigen, wobei der Körper eigenartig tordiert wird (Fig. 11, 18). Nach vorn und nach hinten kann die Zuspitzung des Körpers bei diesem Typus mehr oder weniger schlank verlaufen. Es gibt Formen, deren Hinterende direkt als abgerundet zu bezeichnen ist (Fig. 20), daneben solche, welche sehr schlank nach hinten zulaufen (Fig. 8, 12), solche, welche ein direkt scharf zugespitztes Hinterende haben (Fig. 19, 42), und schließlich solche, bei denen es sogar in einen langen dünnen Faden ausläuft (Fig. 38, 40). Innerhalb dieses Typus kann man ein sehr verschiedenartiges Verhalten des Protoplasmas konstatieren. Während die einen ein fast absolut klares Protoplasma besitzen, haben andere spärliche Granulationen, im letzteren Falle sind sie stets am Hinterende angehäuft (Fig. 10). Von diesem aus scheinen sie bei reichlicher Vermehrung sich gegen das Vorderende hin auszubreiten. Und man kann Individuen finden, bei welchen die Granulationen sich bis zum Kern ausdehnen, solche, bei denen sie den Kern umgeben, und schließlich solche, bei denen sie den ganzen Körper bis vornhin erfüllen. Die Tiere dieses Typus sind sehr beweglich, sie schwimmen umher, indem sie ihre nach vorn gerichtete Geißel als Bewegungswerkzeug

benützen. Dagegen ist festzustellen, daß sie nicht zu erheblichen Veränderungen ihrer Körperumrisse geneigt sind; zwar kann man manchmal erkennen, daß Vorder- oder Hinterende spitzer oder stumpfer wird, man kann wahrnehmen, daß die Geißel sich verlängert oder verkürzt und dementsprechend der Körper sich zusammenzieht oder ausdehnt. Die innere Beschaffenheit der Körpers zeigt auf gefärbten Präparaten nichts besonders Bemerkenswertes, was nicht bei anderen Typen auch vorkäme.

3. Keulenförmige Individuen. Ein sehr merkwürdiger Typus war vor allen Dingen nach etwa 6 Wochen massenhaft in den Kulturen vertreten. Es waren dies Exemplare, welche am vorderen oder hinteren Ende keulenförmig angeschwollen waren (Fig. 13—17, ferner Fig. 94—96). Sie hatten ein relativ helles Protoplasma mit zahlreichen Granulationen. Auch enthielten sie meistens die später zu erörternden fettartigen Tröpfchen. Der Hauptteil des Körpers bestand aus einem schwanzartigen dünnen Fortsatz; wenn er nach hinten gerichtet war (Fig. 13, 14, 15, 17), so lief er oft in einen feinen Faden aus, war er dagegen nach vorn gerichtet (Fig. 16), so war er relativ breit und plump und am vorderen Ende etwas abgerundet. Von dieser Rundung entsprang die Geißel. Befand sich die keulenförmige Anschwellung am Vorderende, so konnte dasselbe entweder breit abgestutzt sein oder in Form eines spitz zulaufenden protoplasmatischen Fortsatzes auf die Geißel übergehen. Bei den Individuen mit vorderer Anschwellung lag der Kern am Vorderende und der Blepharoplast in seiner Nähe. Bei denjenigen jedoch, welche am hinteren Ende angeschwollen waren, lag wiederum der Kern in dieser Anschwellung, also gegen das Hinterende zu. Meist lag dann der Blepharoplast vom Kern ziemlich weit getrennt in der Nähe des Vorderendes. Doch gab es in dieser Beziehung erhebliche Variationen (vgl. die Fig. 94—96).

Unter dem Mikroskop konnte man solche Formen stundenlang beobachten, ohne daß sie ihre Gestalt änderten. Doch konnte man bei anderen Individuen einen ziemlich hohen Grad von Metabolie feststellen, die keulenförmige Anschwellung konnte bei ihnen vom Hinterende zum Vorderende wandern, auch eventuell in der Mitte stehen bleiben, kurz, es zeigten sich alle jene Veränderungen, wie sie für Eugleniden, besonders manche *Euglena*- und *Astasia*-Arten, typisch sind.

4. Crithidiaähnliche Individuen (Taf. XI Fig. 19—22, 24—27, 38, 39). Bei allen bisher geschilderten Typen konnten wir feststellen, daß gelegentlich ein Teil des Protoplasmakörpers am

Vorderende in engere Beziehungen zur Geißel tritt. Gar nicht selten finden sich nun Formen, bei denen am Vorderende ein Ansatz zur Ausbildung einer undulierenden Membran deutlich erkennbar ist. Solche Formen erscheinen dann am Vorderende mehr oder weniger bandförmig abgeplattet, ihr Kern liegt noch stets im vorderen Drittel des Körpers, der Blepharoplast etwas vor oder hinter demselben. In allen übrigen Organisationsmerkmalen können sich solche Formen irgendeinem der geschilderten Typen anfügen. So können sie am Hinterende bald abgerundet, bald zugespitzt, bald selbst in einen langen Faden ausgezogen sein.

5. Typische Trypanosomen. In den Anfangsstadien der Kultur herrschten die Formen vom ersten bis dritten Typus vor, daneben waren die gleich zu schildernden des sechsten Typus häufig. In späteren Stadien traten nicht selten neben den Formen des vierten Typus auch noch Individuen auf, welche durchaus als typische Trypanosomen zu bezeichnen waren. Aber sie entfernten sich in ihrem Aussehen recht weit von denjenigen Formen, welche zum Ausgangspunkt der Kultur gedient hatten. Sie waren relativ breit, wenigstens in ihrem mittleren Körperabschnitt, das Hinterende war stets in einen langen Faden ausgezogen, das Vorderende scharf zugespitzt und in eine relativ kurze Geißel fortgesetzt (Taf. XI Fig. 28 u. 29). Der Kürze der Geißel entsprach eine lange undulierende Membran. Dieselbe erstreckte sich über die ganze Länge des Körpers, sie war breit, lamellenförmig und in eine Anzahl größerer Windungen gelegt. Die Tiere führten mit ihr lebhafte Bewegungen aus. Sie war glashell durchsichtig, mit einem deutlichen verdickten Randfaden versehen und setzte sich scharf von der granulierten anderen Körperhälfte ab. Diese enthielt mit dem Entoplasma auch den Kern. Derselbe lag im hinteren Drittel des Körpers und noch hinter ihm befand sich der Blepharoplast.

Je nach dem Zustand der Kultur fand man nun solche Trypanosomenstadien von verschiedenen Dimensionen. Es gab schmale und breite, lange und kurze, solche mit breiter und mit schmaler undulierender Membran. Manche Individuen sahen sehr merkwürdig aus; sie waren schmal, sehr lang, spindelförmig und endeten in einem langen Schwanzfaden. Sie hatten stets eine weit nach hinten reichende, deutliche undulierende Membran (Taf. XI Fig. 31—35). Einzelheiten kann man aus den Abbildungen und aus der unten angefügten Maßtabelle entnehmen. Bemerkenswert ist der Umstand, daß ausgesprochene Trypanosomen und vor allem breite Trypanosomenformen hauptsächlich in den Kulturen mit reichlich Kondens-

wasser auftraten. Untersuchungen über die experimentelle Beeinflussung dieser Erscheinung sind im Gange und werden sich dieser Publikation später anschließen.

6. Spirochätenähnliche Stadien (Taf. XII Fig. 44—57). Schon in den ersten Tagen ließen sich in den Kulturen einzelne Individuen von ausgesprochen spirochätenähnlichem Habitus nachweisen. Sie waren fadendünn, ihre Dicke konnte bis auf 1 oder gar $^1/_2$ μ herabsinken. Gewöhnlich war eine lange, lebhaft sich schlängelnde Geißel vorhanden, welche sich ganz unmerklich in den langausgezogenen Körper fortsetzte. Dieser selbst war am Hinterende ganz allmählich in eine lange fadenförmige Spitze ausgezogen. Meist war eine Schlängelung den Körper entlang wahrnehmbar, welche unter Umständen ganz deutlich sich als durch eine sehr schmale undulierende Membran verursacht herausstellte. Die Endteile des Körpers waren meist glashell durchsichtig, der centrale Teil manchmal fein granuliert, doch waren manche der sehr dünnen Formen ganz frei von auffälligeren Granulationen. Im Plasma konnte man am lebenden Tier ein Bläschen erkennen, welches wohl dem Kern entsprach; in größerer oder geringerer Entfernung von ihm lag der Blepharoplast. An gefärbten Exemplaren war es nicht immer möglich, diese beiden Zellorgane deutlich darzustellen. Nicht selten färbte sich der ganze Körper diffus, und manchmal hatte es selbst den Anschein, als sei der Kern in eine Anzahl chromatischer Brocken aufgelöst. Ich zweifle nicht daran, daß alle diese Verschiedenheiten im Aussehen der konservierten Individuen auf die Schwierigkeit der Konservierung zurückzuführen sind. Ein großer Prozentsatz selbst der feinsten und dünnsten Individuen zeigt im gefärbten Präparat deutlich den Kern und den Blepharoplast.

Übergänge zu den ausgesprochen spirochätenähnlichen Formen sind auf Taf. XI in Fig. 36—43 dargestellt. Zum Teil sind sie noch relativ breit, aber sehr lang, zum Teil sind sie am hinteren Ende abgestumpft usw.

Beobachtet man die spirochätenähnlichen Individuen im Leben, so zeigen sie auch in der Art ihrer Beweglichkeit eine sehr große Ähnlichkeit mit echten Spirochäten. Sie schlängeln mit dem ganzen Körper, können sich so sehr biegen, daß der Körper einen vollkommenen Kreis bildet und sich eventuell sogar verknäuelt (vgl. Taf. XII Fig. 49, 52, 53, 77). Man hat bei ihnen oft den Eindruck, als hätten sie die Fähigkeit, den Körper zu verkürzen und zu verdicken; dabei scheint die Geißel länger zu werden. Das Bild, welches sie im Leben und im konservierten Präparat darbieten,

macht es mir sehr verständlich, daß Schaudinn entsprechende Stadien einer anderen Trypanosomenart anfangs für echte Spirochäten hielt.

7. Abgekugelte Stadien (Taf. XIII Fig. 110—112). Wir haben schon oben erwähnt, daß ganz im Anfang der Kultivierung abgekugelte Stadien mit langer Geißel regelmäßig auftreten. Ähnliche Formen sind beständig vorhanden. Sie werden aber in den spätesten Stadien, wenn die Kultur bereits dem Eingehen nahe ist, besonders häufig. Dann bemerkt man auch, daß zahlreiche dieser abgekugelten Individuen keine freie Geißel besitzen. Sie sind meist stark granuliert, ihr Plasma oft dunkel gefärbt, eine eigentliche Hüllschicht ist an ihrer Peripherie nicht vorhanden, wohl aber bisweilen eine gallertige Absonderung.

Nach den bereits oben angedeuteten Erfahrungen sind diese Stadien in einem gewissen Sinne als Dauerstadien aufzufassen, denn sie können eine geraume Zeit in diesem Zustand sich erhalten, um bei einer Verbesserung der Entwicklungsmöglichkeiten wieder eine Geißel zu erlangen und lebhaft beweglich zu werden. Allem Anschein nach ist jedoch in diesem abgekugelten Zustand die Vermehrungsfähigkeit nicht erloschen, man findet Zwei- und Mehrfachteilungen (Taf. XIII Fig. 112) von solchen abgekugelten Individuen, auch deutet alles darauf hin, daß sie nicht imstande sind, Austrocknung oder erheblich ungünstige Lebensverhältnisse zu ertragen. Manche dieser abgekugelten Stadien zeigen sehr interessante Strukturen und Kernverhältnisse. Man ist manchmal versucht, an Vorgänge der Autogamie zu denken; über diesen Punkt folgt näheres in dem nächsten Beitrag.

Die sieben geschilderten Typen sind willkürlich herausgegriffen aus der Fülle der Erscheinungsformen, welche sich in einer künstlichen Kultur vorfinden. Es sind nur die charakteristischsten Gestalten einer formenreichen Reihe. Alle Formen kommen in sehr verschiedenen Dimensionen vor. Bei rapid sich entwickelnden Kulturen auf Agar mit geringem Blutzusatz ($^1/_{10}$) entwickeln sich herpetomonas- und spirochätenähnlich gebaute Individuen von minimaler Größe in großen Massen. Ich habe einige vom Herpetomonastypus auf Taf. XII Fig. 61—66 abgebildet. Sie sehen zum Teil sehr eigenartig aus, sind oft zu vielen Hunderten in Rosetten vereinigt. Sie messen in der Länge nicht mehr als 2 bis höchstens 4 μ. Über sie wird später noch eingehender zu sprechen sein. Es kommen, wie aus der Maßtabelle S. 224 hervorgeht, Längen zwischen 62 μ (ich habe auch noch längere Formen gelegentlich beobachtet) und

2 μ vor; als Breiten variieren in der gleichen Kultur zwischen 8 μ und weniger als $^1/_2$ μ.

Eine genauere Betrachtung zeigt, daß alle die geschilderten Formen durch kontinuierliche Übergänge miteinander verbunden sind. Viele dieser Formen sind in den Abbildungen dargestellt. Den Übergängen in der äußeren Form stehen entsprechende Übergänge in der inneren Organisation an der Seite.

Diese Tatsache legt den Schluß nahe, daß es sich um Formen handelt, welche direkt ineinander übergehen können. An sich wäre ja die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß nur einzelne der Typen zusammengehören, daß aber die Gesamtheit der vielgestaltigen Formen auf eine Anzahl von Arten zurückzuführen sei. Würde es sich nachweisen lassen, daß alle Formen nur zu einer Art gehören, so bliebe die weitere Frage zu entscheiden, ob es sich etwa in dem in der Einleitung dargelegten Sinne um geschlechtliche Differenzierungen dieser einen Art handele. Zur Klärung dieser Frage dürften nachfolgende Beobachtungen einiges beitragen:

Bei der rapiden Vermehrung der Trypanosomen in den Kulturen kann man mit Sicherheit darauf rechnen, zahlreiche Teilungsstadien zu beobachten. Dieselben sind nicht nur in den konservierten Präparaten häufig, sondern wir können sie auch jederzeit im Leben beobachten. Es zeigt sich nun, daß außer den schon längst bei Trypanosomen genauer geschilderten Zweiteilungsstadien und den charakteristischen Teilungsrosetten nicht selten inäquale Zweiteilungen vorkommen. Man kann sehr häufig Bilder beobachten, wie sie in den Fig. 75, 77, 78 u. 79 abgebildet sind. Wie man sieht, haftet in all diesen Fällen ein mehr oder minder dünnes Individuum an einem dickeren Individuum fest. Und zwar erstreckt sich die Verbindung bald auf einen kurzen, bald auf einen längeren Teil des Körpers. Nicht selten kann man als einziges Zeichen der Zweiheit an einem einheitlich erscheinenden Körper zwei Geißeln wahrnehmen.

Im Anfang schien es mir nicht unwahrscheinlich, daß solche Bilder auf Verschmelzung zweier Individuen zurückzuführen seien. Ich habe daher in einer größeren Anzahl von Fällen Individuen mit Anzeichen der Zweiheit stundenlang verfolgt und in allen Fällen nachweisen können, daß es sich um Stadien der Teilung handelte. In den Fig. 67—72 ist eine derartige Beobachtungsserie nach den Skizzen wiedergegeben. Am 18. Dezember 1908 beobachtete ich ein herpetomonasähnliches Individuum, welches zwei Geißeln besaß und am Vorderende eine leichte Einkerbung erkennen ließ. Die Beobachtung begann um 1^h $47'$ (Fig. 67), schon um 1^h $50'$ war eine

Maßtabelle einer Anzahl mit dem Okularmikrometer gemessener Kulturtrypanosomen

(alle aus der gleichen Kultur 2 gemessen am 4. Januar 1909.

Nr.	Form	Länge	Größte Breite	Bemerkungen
13	Breite Trypanosomenform Körper Geißel	16—18 μ 12 μ	8 μ	Breitestes gemessenes Individuum
4	Keulenförmiges Individuum Körperlänge ohne Geißel	18 μ	7 μ	Abgebildet Taf. XI Fig. 17
6	Herpetomonasform Körper ohne Geißel	24 μ	5 μ	
11	Trypanosomenform Körper Geißel	40 μ 16—20 μ	5 μ	
12	„ Körper Geißel	50 μ 10—12 μ	5 μ	Größte gemessene Kulturform
7	Herpetomonasform	44 μ	4 μ	
2	„	36 μ	3 μ	
3	„ Körper Geißel	24 μ 20 μ	2,5 μ	Von ziemlich gleichmäßiger Breite des ganzen Körpers
5	Crithidiaform Körper ohne Geißel	28 μ	2,5 μ	
8	Lange Spirochätenform	36 μ	1 μ	
10	„ „	50 μ	ca. 2/3 μ	Eine der längsten gemessenen Formen; fast ebensolang wie die 5 μ breite Trypanosomenform Nr. 12
1	Kleine Spirochätenform	18—20 μ	ca. 1/2 μ	
9	Körper ohne Geißel	14 μ	weniger als 1/2 μ	

Aus Kultur D 11 stammen:

Nr.	Form	Länge	Größte Breite
14	Kleinste Herpetomonasformen	4 μ	ca. 1 μ
15	„ „	3 μ	ca. 1/2 μ
16	Kleinste Spirochätenformen	3 μ	weniger als 1/2 μ
17	„ „	2 μ	weniger als 1/2 μ

ziemlich tiefe Furche zwischen beiden Geißelursprüngen aufgetreten (Fig. 68), um 1^h 58' war sie fast bis zum hinteren Drittel des Körpers vorgedrungen (Fig. 69). Um 2^h erkannte man die schwach durchschimmernde Teilungsspindel (Fig. 70). Um 2^h 3' waren die Kerne der beiden Tochtertiere vollkommen getrennt (Fig. 71); nach einigen Minuten klappten die Tiere, welche nur mit dem Hinterende noch aneinander hingen, auseinander (Fig. 72), und um 2^h 14' rissen sie sich voneinander los. Der ganze Teilungsvorgang hatte also eine gute halbe Stunde in Anspruch genommen. Vom ersten Momente an war eine Ungleichhälftigkeit bei der Teilung unverkennbar, das eine Tochtertier erhielt bei weitem weniger Körperprotoplasma mit als das andere. Es resultierte neben einem ziemlich dicken Individuum ein dünnes spirochätenähnliches Wesen. Derartige Beobachtungen konnte ich oft wiederholen und ich gebe noch eine ganze Anzahl von Abbildungen, welche solche ungleichartigen Zwillinge darstellen. Ich gebe nur Bilder von solchen Fällen, in denen ich die Lostrennung der beiden Individuen voneinander beobachtet habe (Fig. 73–78). In einem Fall, den ich als Beispiel unter vielen herausgreife, betrugen die Maße der ungleich großen, aus einem Mutterindividuum hervorgehenden Sprößlinge:

Körperlänge bei beiden ca. 14 μ,
Geißellänge „ „ ca. 16 μ,
Körperbreite des breiteren Tochtertieres ca. 3 μ,
„ „ schmalen „ ca. $1^1/_4$ μ.

Ähnliche Feststellungen konnte ich noch für eine ganze Anzahl der anderen beschriebenen Formen machen. Aus diesen Beobachtungen konnte ich erkennen, daß jeweils die eine Form als Tochtertier der anderen entstehen kann. Speziell bei den spirochätenförmigen Individuen konnte ich die Abstammung von breiteren Individuen nachweisen, und in nicht wenigen Fällen war es auch deutlich, daß nach der Abtrennung einer Spirochätentochter das Muttertier sich alsbald anschickte, ein neues zu produzieren.

Diese Beobachtungen haben mich zu der Annahme geführt, daß die spirochätenähnlichen Tiere Jugendformen eventuell Hungerstadien des Froschtrypanosomas darstellen. Ich bin in dieser Annahme bestärkt worden durch die Beobachtung, daß Individuen ihre Dimensionen bei längerer Beobachtung verändern. Ich konnte feststellen, daß spirochätenähnliche Individuen nach einigen Stunden trypanosomenähnlich wurden, d. h. sie hatten an Masse des Protoplasmas zugenommen. Kern und Blepharoplast hatten sich etwas verschoben, die undulierende Membran war breiter und deutlicher geworden. In

den von mir beobachteten Fällen gelang es nie, ein sehr erhebliches Wachstum festzustellen, da in der Regel frühzeitig eine neue Teilung begann.

Bei der Beobachtung solcher Teilungsstadien muß man sich vor einigen Fehlerquellen in acht nehmen. Täuschungen können vor allen Dingen dadurch bedingt sein, daß die lebhaft sich vermehrenden Kulturtrypanosomen an der Oberfläche außerordentlich klebrig sind. Die Beobachtung der lebenden Kulturen zeigt, daß die Klebrigkeit der Oberflächenschicht des Körpers vor allem für die Teilungsperiode und die erste Zeit der aus Teilungen hervorgegangenen jungen Individuen charakteristisch ist. Sie ist bei den großen, relativ breiten Individuen auffallender und stärker als bei den kleinen und dünnen. Die Klebrigkeit beschränkt sich nicht nur auf die Oberfläche des eigentlichen Körperteils, sondern sie ist vielfach auch an der Geißel bemerkbar. An der Geißel treten oft tropfenartige Bildungen von klarem Glanz und starker Lichtbrechung auf (Taf. XI Fig. 12). Die im Kulturmedium umherschwimmenden Trypanosomen bleiben sehr leicht an Zweiteilungsstadien und an Teilungsrosetten hängen. Häufig bin ich bei der Beobachtung des Teilungsvorganges dadurch sehr gestört worden, daß ein vorbeischwimmendes Trypanosoma an dem in der Teilung begriffenen Individuum hängen blieb. Durch die heftigen Bewegungen des sich teilenden Tieres und des unwillkommenen Hinzukömmlings entstand meist ein so wirrer Knäuel, daß eine genaue Verfolgung der Teilungserscheinungen unmöglich gemacht wurde. In einer Anzahl von Fällen gelang es jedoch dem angeklebten *Trypanosoma*, sich nach einiger Zeit wieder zu befreien. Ich sah häufig Fälle, in denen spirochätenähnliche Individuen verklebt waren mit dickeren Individuen. Im Anfang glaubte ich solche Fälle mit Sicherheit als Copulationsstadien deuten zu dürfen. Dieser Eindruck wurde noch bedeutend verstärkt, wenn ich dergleichen Stadien im konservierten Präparat studierte. In der obenerwähnten Weise zeigte sich dann oft der Kern des spirochätenähnlichen Partners undeutlich, geradezu aufgelöst, während er bei dem dickeren Individuum deutlich sichtbar war. Unwillkürlich war man versucht, solche Bilder mit den von Prowazek beschriebenen und abgebildeten Copulationsstadien von *Trypanosoma Lewisi* in Parallele zu bringen.

Längere Beobachtungsreihen brachten aber keine Beweise für eine solche Annahme. Es zeigte sich, daß bei sorgfältiger Konservierung auch die dünnsten Spirochätenstadien deutlich konturierte Kerne aufwiesen. Es zeigte sich ferner, daß in jedem Falle, der genügend lange beobachtet wurde, zwei in dieser Weise miteinander

verklebte Individuen sich schließlich wieder voneinander losrissen. In keinem Falle aber gelang es, eine endgültige Verschmelzung und weitere Umwandlung eines solchen Paares nachzuweisen. Dagegen zeigten zahlreiche Beobachtungen, daß die frisch entstandenen spirochätenähnlichen Individuen eine auffallende Neigung hatten, miteinander, mit Teilungsrosetten, mit Blutkörperchen, mit Gallertklümpchen des Kulturbodens usw. zu verschmelzen. Sie hatten also die eigenartige Klebrigkeit der Oberfläche beibehalten, welche für das Muttertier vom Beginn des Teilungsvorganges an charakteristisch gewesen war.

Aus diesen Beobachtungen geht jedenfalls hervor, daß die Beschaffenheit der Oberfläche bei den Kulturtrypanosomen von inneren Bedingungen beeinflußt wird. Der Vergleich der verschiedenen Kulturen zeigt aber, daß auch äußere Einflüsse von Bedeutung für diese Eigenschaft sein können. Dafür ist ja auch das Verhalten der Trypanosomen im Froschorganismus ein Beweis. Inwiefern die Oberflächenbeschaffenheit experimentell beeinflußbar ist, das wird in einem der späteren Kapitel dargestellt werden. Jedenfalls kann kein Zweifel darüber herrschen, daß sie von wesentlicher Bedeutung für die große Variabilität der Form ist, welche wir in dem vorstehenden Kapitel geschildert haben. Auch läßt sich ein Einfluß auf die Teilungserscheinungen nicht verkennen.

Die Trypanosomen sind in den Kulturen, solange ihnen ein hinreichend flüssiges Medium dargeboten wird, sehr lebhaft beweglich. Sie schwimmen mit großer Schnelligkeit durch das Gesichtsfeld. Dabei unterscheiden sich die dünnen herpetomonasähnlichen und spirochätenförmigen Individuen mit ihrer starren Körperhaltung und ihrem wackelnden, stoßweißen Schwimmen sehr von den elegant sich schlängelnden Trypanosomenformen. Doch ist nicht durchweg die Art der Bewegung abhängig von der äußeren Form. Sie ist vielmehr von inneren Strukturen abhängig.

An Luftblasen und anderen Gegenständen bilden sich oft Anhäufungen von Tausenden von Trypanosomen, wobei Chemotaxis und Thigmotaxis zusammenwirken. Dabei kommt es nicht selten zu Massenverklebungen.

Nicht weniger variabel als die äußere Form und die Oberflächenschicht ist übrigens auch die Beschaffenheit des Körperprotoplasmas. Während es bei den dünnen langen Formen auffallend zähflüssig ist, ist es bei den breiten Formen viel leichtflüssiger; bei den trypanosomen- und den herpetomonasähnlichen Formen kann man nicht selten lebhafte Protoplasmaströmung beobachten. In der Regel ist

bei den ersteren das Protoplasma reich an feinen Granulierungen, arm dagegen an größeren Tröpfchen und Granulen. Größere Vacuolen fehlen bei ihnen ganz, doch ist vielfach die feine Schaumstruktur des Protoplasmas deutlich erkennbar. Bei den größeren Formen treten nicht selten Vacuolen auf, welche selbst bei normalen Individuen sich oft lange Zeit erhalten. Das Protoplasma besitzt verschiedenerlei Granulationen, von denen diejenigen, welche färbbar sind, im nächsten Kapitel erörtert werden sollen. Hier will ich nur eine Form von Einschlüssen des Protoplasmas erwähnen, welche im Leben sehr deutlich sichtbar sind und infolge ihrer Eigenart besondere Beachtung verdienen. Im mittleren Stadium der Kulturen waren die im Agar gezüchteten Individuen, im mikroskopischen Präparat bei durchfallendem Licht lebend beobachtet, auffallend dunkel gefärbt. Sie verdanken diesen dunklen Ton dem Vorhandensein mehr oder weniger zahlreicher, stark lichtbrechender Tropfen.

Diese Tropfen oder Körner waren vielfach sehr regelmäßig angeordnet, bei vielen Individuen erfüllten sie den ganzen Körper von vorn bis hinten. Bei anderen waren sie im vorderen Teil, d. h. in der Region vor dem Kern spärlich vorhanden, dagegen in der Region hinter dem Kern in großer Masse angehäuft (vgl. Fig. 58, 59, ferner Fig. 102, 106). Wieder bei anderen waren nur spärliche Gruppen oder Reihen im hintersten Ende vorhanden (Fig. 60). Nur wenige waren ganz frei von ihnen. Im allgemeinen konnte man feststellen, daß diese Bildungen sehr regelmäßig angeordnet waren (Fig. 106). Selbst wenn die Anzahl der Tropfen nur gering war, zeigten sie sich in Längsreihen geordnet. An jeder Längskante des Körpers sah man dann im optischen Durchschnitt eine ganz regelmäßige Reihe, welche fast wie das Epithel eines vielzelligen Tieres aussah, auch die dazwischen liegenden Gruppen zeigten eine Tendenz, sich in Längsreihen anzuordnen. Im großen und ganzen kann man sagen, daß Tiere, welche sich zur Teilung anschickten, reich an diesen Granulationen waren, während Individuen, welche kürzlich aus der Teilung hervorgegangen waren, sehr wenige oder gar keine aufwiesen. Man hatte also den Eindruck, als handle es sich um einen Stoff, welcher sich in den Tieren während des Wachstums aufspeichert und während der Vermehrungsvorgänge wenigstens zum Teil verbraucht wird.

In den konservierten Präparaten zeigte sich an Stelle der Tropfen je ein Hohlraum (Fig. 102, 106). Der betreffende Stoff hatte sich also gelöst. Da er in seinem Aussehen infolge seiner starken Lichtbrechung und seines matten Glanzes sehr an Fett erinnerte, so

wandte ich einige Fettreagentien an. Bei Einwirkung von Osmiumsäure stellte sich eine leichte Bräunung dieser Körperchen ein, welche in Wasser, Glycerin und schwachem Alkohol ungelöst blieben. Bei Färbung mit Hämatoxylin nahmen sie übrigens einen schwach violetten Farbton an. Sudanfärbung mißlang. Ich bin infolgedessen im Zweifel, ob es sich um eine fettartige Substanz gehandelt haben kann, und genauere Untersuchungen kann ich erst durchführen, wenn meine neuen Kulturen sich im entsprechenden Stadium befinden.

Ich bemerke, daß ich öfters sehr ähnlich aussehende Substanzen in Protozoen bemerkt habe, welche zu Versuchen über Immunität in serumhaltigen Flüssigkeiten gezüchtet wurden.

Dies sind in der Hauptsache die Tatsachen, welche an den lebenden und frischen Kulturen gewonnen werden konnten. Im nächsten Abschnitt will ich nun zunächst darstellen, welche zum Teil höchst bemerkenswerten Befunde cytologischer Natur sich an den konservierten Präparaten, und zwar sowohl an Tieren aus dem Froschblut, als auch an Kulturtrypanosomen, machen ließen. In weiteren Abschnitten wird sich dann die Erörterung der verschiedenartigen Experimente anschließen, zu welchen mich die dargestellten Tatsachen angeregt haben.

Ich verschiebe die Beschreibung der schon gewonnenen Resultate über diese verschiedenen Punkte hauptsächlich deswegen, weil ich neuerdings eine vorzügliche neue Methode der Färbung gefunden habe, welche sehr deutliche Bilder der Zellstrukturen ergibt. Ich habe neue Kulturen angelegt, um mit Hilfe der neuen Färbungsmethode meine Resultate zu kontrollieren und eventuell einige dunkel gebliebene Punkte aufzuklären.

Aus diesem Grunde habe ich nur wenige Bilder nach konservierten Präparaten auf Taf. XIII abgebildet, welche zum Verständnis der vorstehenden Abschnitte notwendig waren und welche zum Teil einige Tatsachen illustrieren, auf welche ich hier noch nicht eingegangen bin.

In Übereinstimmung mit den in den einleitenden Worten zu diesem Artikel ausgesprochenen Grundsätzen will ich auf die Bedeutung der dargelegten Tatsachen nicht näher eingehen. Nur darauf will ich hinweisen, daß sie zwei Schlüsse als berechtigt erscheinen lassen:

1. Wir müssen sehr vorsichtig sein, wenn wir morphologische Merkmale, Form, Lage der Zellbestandteile, Dimensionen usw. zur Charakterisierung der „Arten“ von Trypanosomen verwenden wollen.

2. Solange nicht bessere Gründe gefunden sind, dürfen wir

Form, innere Struktur, Bewegungsapparat, Reichtum an Reservesubstanzen usw. nicht ohne weiteres zur Kennzeichnung der Trypanosomenindividuen als „Männchen“, „Weibchen“ oder „indifferente Formen“ verwenden.

München, Februar 1910.

Tafelerklärung.

Tafel XI.

Sämtliche Figuren beziehen sich auf Form des in künstlicher Kultur gezüchteten *Trypanosoma rotatorium* aus dem Blut von *Rana esculenta*. Die Abbildungen sind angefertigt nach dem lebenden Objekt. Die Dimensionen sind aus der Maßtabelle S. 224 zu entnehmen.

Fig. 1—3. Kuglige und ovale Stadien aus den ersten Tagen der künstlichen Kultur.

Fig. 4—7. Herpetomonasähnliche Individuen.

Fig. 8—12. Schlanke Spindelformen. In Fig. 8—10 sind die regelmäßig angeordneten Tropfen fettartiger Substanz zu beachten.

Fig. 12 Teilung eines spindelförmigen Individuums.

Fig. 13—17. Keulenförmige Individuen.

Fig. 18—27. Crithidiaähnliche Individuen.

Fig. 23 u. 24. Halbmondförmige Individuen.

Fig. 28—30. Ausgesprochene Trypanosomenformen.

Fig. 31—35. Sehr schlanke spindelförmige Trypanosomenformen.

Fig. 36 u. 37. Sehr schlanke Herpetomonasformen.

Fig. 38—40. Schlanke spindelförmige Crithidiaformen.

Fig. 40—42. Übergänge zu den Spirochätenformen.

Tafel XII.

Auch für diese Tafel gelten die gleichen allgemeinen Bemerkungen wie für Tafel XI.

Fig. 44—57. Schlanke, bis sehr schlanke spirochätenähnliche Individuen.

Fig. 58—60. Individuen mit Tropfen fettartiger Substanz im Plasma. Diese drei Figuren sind nach Tieren angefertigt, welche mit Osmiumsäure abgetötet waren, mit Delafield's Hämatoxylin gefärbt waren und in Glycerin untersucht wurden.

Fig. 61—66. Sehr kleine Zwergformen aus Kulturen in $^1/_{10}$ Blutagarnährboden.

Fig. 67—71. Aufeinanderfolgende Teilungsstadien eines herpetomonasförmigen Kulturtrypanosomas.

Fig. 67. Gezeichnet 1h 47'.
Fig. 68. „ 1h 50'.
Fig. 69. „ 1h 58'.
Fig. 70. „ 2h.
Fig. 71. „ 2h 3'.
Fig. 72. „ 2h 14'.

Fig. 73 u. 74. Zwei Stadien der Teilung eines anderen Individuums. In diesem letzteren Fall könnte es sich auch um das Rückgängigmachen einer Verschmelzung handeln.

Fig. 75. Teilung in zwei sehr ungleiche Teilhälften.

Fig. 76—78. Vorübergehende Verschmelzung resp. Verklebung von sehr ungleichen Trypanosomen (oder Teilung?).

Fig. 79. Trennungsmoment eines sehr ungleichen Paares.

Tafel XIII.

Fig. 80. Bündel von jungen Trypanosomen, welche kurz vorher aus der Teilung eines großen Individuums hervorgegangen sind.

Fig. 81. Teilungsrosette.

Fig. 82. Teilung oder Verklebung zweier sehr ungleich aussehender Individuen.

Fig. 83. Verklebung von drei Individuen mit dem Schwanzfaden.

Fig. 84. Teilungsstadium eines mittelgroßen Individuums.

Fig. 85. Verklebung von vier sehr schmalen Individuen.

Fig. 86. Teilungsrosette, entstanden aus einem großen Individuum.

Fig. 87. Ebenso wie Fig. 86, jedoch etwas späteres Stadium, beginnende Bildung von Geißeln. Fig. 80—87 sind nach dem Leben gezeichnet.

Fig. 88. Teilungsrosette, wenige Stunden nach der Anlage der Kultur aus einem großen Trypanosoma gebildet.

Fig. 89. Ebenso wie Fig. 88; es ist jedoch der Rosettenbildung eine Zweiteilung vorausgegangen.

Fig. 90. Kleine Rosette.

Fig. 91. Vierteilung.

Fig. 92. Zweiteilung. Fig. 90—92 sind auf Individuen zurückzuführen, welche vor der Rosettenbildung sich schon einmal geteilt hatten.

Fig. 93. Zweiteilung eines freibeweglichen großen Individuums, wenige Stunden nach Anlage der Kultur. Nach dem Leben gezeichnet.

Fig. 94. Keulenförmige Kulturtrypanosoma mit Anschwellung am Vorderende.

Fig. 95 u. 96. Keulenförmige Kulturtrypanosomen mit Anschwellung am Hinterende.

Fig. 97. Wie Fig. 94.

Fig. 98—101. Herpetomonasähnliche Individuen.

Fig. 102. Crithidiaähnliches Individuum.

Fig. 103—105. Herpetomonasähnliche Formen, teilweise in Vorbereitung zur Teilung.

Fig. 106. Form mit langem Stützfaden.

Fig. 107. Trypanosomenähnliche Form in multipler Teilung begriffen.

Fig. 108 u. 109. Agglomerationsrosetten aus lange fortgesetzten Kulturen.

Fig. 110 u. 111. Abgekugelte geißellose Stadien.

Fig. 112. Zweiteilung in diesem Zustand, es sind zwei Kerne und zwei Blepharoplaste vorhanden.

Auf dieser Tafel sind Fig. 80—87, Fig. 108 u. 109 und Fig. 93 nach dem Leben gezeichnet, die übrigen Figuren sind nach konservierten Präparaten angefertigt, von denen die Fig. 88—92 mit Giemsa-Farblösung, die Fig. 95, 97, 99 u. 106 mit Eisenhämatoxylin, die Fig. 94, 96, 100, 101, 102, 103, 104, 105 u. 107, sowie 110—112 mit Delafield's Hämatoxylin gefärbt waren.

Su alcuni flagellati endoparassiti.

Pel
Dr. **Bruno Parisi.**

(Colla tavola XIV.)

Studiando dei protozoi endoparassiti, mi fu dato di riscontrare in vari animali dei flagellati che presentavano un certo interesse morfologico e sistematico. Di tre di queste specie, una delle quali nuova e le altre poco note, do ora una descrizione un po' dettagliata.

I. *Trichomonas* (*Tetratrichomonas*) *Prowazeki* Alex.

Recentemente il signor Alexeieff osservò nell' intestino di alcuni Batraci (*Salamandra maculosa* Laur., *Triton cristatus* Laur., *Alytes obstetricans* Wagl.) una *Trichomonas*, che a differenza di tutte le altre fino allora conosciute, aveva anteriormente quattro flagelli invece di tre: ne fece una nuova specie e la chiomò *Trichomonas Prowazeki.*

Trovai una forma simile in un giovane cocodrillo (*Crocodilus palustris* Less.) morto nell' Acquario di Milano e conservo per essa il nome specifico di *Prowazeki*, perchè probabilmente è la stessa che osservò l'Alexeieff; però dalla breve descrizione che egli ne dà non è possibile stabilire con sicurezza l'identità. Faccio per questo flagellato il nuovo sattogenere *Tetratrichomonas* per le ragioni che dirò più sotto.

I preparati per strisciamento furono fissati con sublimato alcoolico (Schaudinn) e colorati con ematossilina ferrica. Ottimi risultati

e sotto certi rapporti superiori a quelli dell' ematossilina, si ottengono fissando brevemente coi vapori di acido osmico (2%), lasciando asciugare il preparato e colorando con Giemsa.

Il corpo della *Tetratrichomonas Prowazeki* è ovoidale od allungato, munito di un' appendice posteriore sottile e stiliforme. La lunghezza varia fra 15—25 μ, su 7—15 μ di larghezza. Anteriormente si trovano quattro flagelli tutti disuguali fra di loro ed un po' più lunghi del corpo; alla base non s'uniscono assieme e nel nuoto si muovono appaiati. Vicino al loro punto d'inserzione s'apre il citostoma, corto e stretto. Il blefaroplasto è doppio: dal lobo più grande (a sua volta spesso quadrilobato) partono i quattro flagelli anteriori, dall' altro lobo più piccolo hanno origine il filamento orlare ed il filamento basale della membrana ondulante, la quale descrive un semigiro attorno al corpo e termina posteriormente con un piccolo flagello libero. Il nucleo è grande, ovale, fornito di membrana: contiene numerose granulazioni cromatiche ed uno (o due) cariosomi. Attorno al nucleo si trova un' area irregolare, chiara, costituita di protoplasma che appare finemente granuloso. L'assostilo dall' estremità posteriore arriva fino al nucleo e forse al blefaroplasto, ciò che non fu potuto osservare con sicurezza. Il protoplasma di struttura alveolare contiene dei grandi vacuoli, alcuni racchiudenti spesso dei cocchi e dei bacteri, dei quali l'animale si nutre.

Il fatto che questo parassita possiede quattro flagelli ha un' importanza maggiore di quanto non gliene abbia dato l'Alexeieff. Trattandosi di forme nelle quali il numero dei flagelli è piccolo e costante, l'averne uno di più od uno di meno, costituisce più di un semplice carattere specifico. Non dico che sia da farsi un genere nuovo, perchè i caratteri differenziali fra i vari generi devono essere più importanti, ma propongo invece il nuovo sottogenere *Tetratrichomonas* da ascriversi al genere *Trichomonas*, il cui concetto di conseguenza va esteso in modo che comprenda anche le forme con quattro flagelli.

Nel genere *Trichomonas* metto pure come sottogenere le *Trichomastix*, perchè il fatto d'avere un flagello libero e lungo invece che ricurvo ed unito al corpo per formare la membrana ondulante, non mi pare sufficiente per tenerne un genere a parte, come generalmente è considerato, mentre per forma, struttura, dimensioni, ciclo di sviluppo, habitat, ecc. è quasi identico ad una *Trichomonas*.

Il Doflein ritiene che la presenza o la mancanza della membrana ondulante dipende principalmente dallo stato del mezzo ambiente

e che per ogni specie può presentarsi una forma *Trichomonas* ed una forma *Trichomastix*. Teoricamente potrebbe essere così, ma fino ad ora ci mancano le prove forniteci dall' osservazione diretta, che ci dimostrino che la stessa specie di *Trichomonas* si trasformi in *Trichomastix*. Il fatto sperimentale che comprimendo fra due vetrini delle *Trichomonas* si rompe talvolta la membrana ondulante ed il suo filamento orlare pesca poi nel liquido come un quarto flagello, ci rende edotti solo sull' origine della membrana. Inoltre se nel medesimo animale si trovassero sempre, anche se non contemporaneamente, delle *Trichomonas* e delle *Trichomastix* si potrebbe forse ritenere queste due forme dimorfe, ma in realtà ci sono degli animali nei quali is riscontrano esclusivamente *Trichomonas*, in altri solo *Trichomastix*. E, volendo sortenere l'idea del dimorfismo, per spiegare quest' ultimo caso bisognerebbe ancora supporre che le due forme vivessero in ospiti diversi, supposizione che sarebbe certo molto azzardata.

Per queste ragioni credo siano da tenersi separate e distinte le *Trichomonas* dalle *Trichomastix* e considerarle come sottogeneri del genere *Trichomonas* s. l. Possiamo quindi definire il

Genere *Trichomonas*.

Flagellati con corpo ovoidale, allungato o periforme, spesso fornito di un' appendice posteriore. Con osenza membrana ondulante: nel primo caso 3—4 flagelli anteriori, nel secondo 4, uno dei quali più lungo degli altri e rivolto all' indietro. Citostoma al polo anteriore. Blefaroplasti all' origine dei flagelli e della membrana ondulante. Rizoplasto osservato solo in qualche specie. Nucleo nella parte anteriore. Assostilo che attraversa il corpo longitudinalmente. Moltiplicazione per divisione e per cisti. Dimensioni varie fino a 40 μ. Si nutrono di bacteri, cocchi, ecc. Endoparassiti specialmente del canal digerente dei vertebrati.

Sottogeneri:

Con membrana ondulante e { 3 flagelli anteriori *Trichomonas s. str.*
{ 4 flagelli anteriori *Tetratrichomonas.*

Senza membrana ondulante e 4 flagelli anteriori (3 eguali ed uno più lungo diretto all' indietro) *Trichomastix.*

II. *Trichomonas (Trichomastix) orthopterorum n. sp.*

Nel 1882 il Grassi, dopo di aver parlato dell' *Heteromita* (?) *Caviae mihi*, scriveva: „Con questa forma vuolsi forse accompagnare un piccolissimo flagellato dell' intestino della Blatta: vi scorsi tre flagelli, che partono dall' estremo anteriore del corpo ed un quarto che origina (?) dall' estremo posteriore, un po' lateralmente.“ Dopo d'allora questo parassita non fu più studiato ed anche il Doflein nel suo recente Trattato lo rammenta solo accennando a questo passo del Grassi.

Il suddetto flagellato fu da me trovato, sempre in grande quantità nell' intestino terminale della *Periplaneta orientalis* proveniente dal Baden, dal Trentino e dalla Lombardia; lo riscontrai una volta nella *Ectobia lapponica* (Lombardia) ed in un individuo adulto di *Gryllotalpa vulgaris* su cinque esaminati, tutti provenienti da un giardino di Milano.

Le sue dimensioni, in confronto di quelle di altri *Trichomastix*, sono piuttosto piccole: generalmente ha una lunghezza che varia fra 8—10 μ; raramente è inferiore o superiore di pochi micron. Il corpo ha la forma d'una pera, con l'estremità anteriore arrotondata, la posteriore allungata e talvolta appuntita. Negli individui provenienti dalla grillotalpa l'appendice posteriore era di solito bene sviluppata e talvolta fornita di un rigonfiamento.

I tre flagelli anteriori sono di uguale lunghezza è grossezza; alla loro base si uniscono insieme e vanno a terminare al blefaroplasto. Questo si presenta bilobo: pare che i tre flagelli anteriori si inscriscano ad un lobo e che dall' altro abbia origine il quarto flagello, lungo circa due volte il corpo, più grosso degli altri e diretto sempre all' indietro. Nella parte anteriore, un po' sotto al blefaroplasto, si trova il nucleo ovale fornito di membrana e di granulazioni cromatiche. Il protoplasma racchiude dei vacuoli, vari di numero e di grandezza.

La moltiplicazione avviene per divisione. Questo processo non fu riscontrato nei preparati, ma osservato sul vivo; non mi riuscì quindi di seguire bene tutto l'andamento, ma di intravvederlo solo nelle sue linee generali. Il flagellato rallenta i suoi movimenti, ma non si ferma completamente. Il corpo si fa rotondeggiante e s'allarga; il nucleo, che durante questo processo diventa più visibile, si allunga, assume la forma di biscotto e poi· si divide in due; pare che contemporaneamente avvenga anche la divisione del blefaroplasto. Il

flagello posteriore ed uno degli anteriori restano da una parte con un blefaroplasto, gli altri due flagelli invece dalla parte opposta. Solo dopo avvenuta da ciascun lato la formazione dei due flagelli mancanti, incominciano a delinearsi alle estremità del corpo i solchi di divisione, che avanzando lentamente separano i due nuovi individui. Questa separazione è facilitata dalle sferzate energiche dei flagelli che tendono a tirarsi dietro i corpi in direzioni opposte.

Nuota abbastanza velocemente coi movimenti tipici di tutti gli altri *Trichomastix*. Si nutre di cocchi e di piccole particelle che introduce nel corpo a mezzo del citostoma stretto e in forma di fessura. Mettendo del contenuto intestinale con l'aggiunta di un po' di soluzione fisiologica fra due vetrini orlati con paraffina o vaselina, si mantengono vivi per una decina di giorni ad anche più. Questa specie e le interessanti *Lophomonas* furono gli unici flagellati che riscontrai nelle blatte; queste ultime anzi in numero scarsissimo, specialmente d'inverno. Una sol volta ne ebbi un' altra forma nel modo seguente: del contenuto intestinale di *Periplaneta orientalis* fu messo in un vetrino da orologio con della soluzione fisiologica; il vetrino fu coperto, tenuto in una camera umida ed osservato due giorni dopo. Nel liquido, oltre ai *Trichomastix* si trovavano numerose *Rhynchomonas nasuta* (*Stokes*) KLEBS. Siccome il vetrino rimase sempre coperto, non credo che le *Rhynchomonas* siano entrate dall' esterno, ma mi pare più verosimile supporre che le sue cisti si siano trovate già prima nel contenuto intestinale; cosa del resto assai probabile, perchè, essendo le blatte onnivore, può darsi benissimo che abbiano mangiato dei cibi sui quali si trovavano le cisti del flagellato. Queste non si saranno aperte nel canal digerente, perchè l'ambiente non sarà stato adatto: difatti le *Rhynchomonas* non furono mai osservate quali endo parassiti.

III. *Trichomonas sp.*

Esaminando il contenuto intestinale di alcuni Axolotl (*Amblystoma mexicanum*) nati ed allevati in quest' Acquario, trovai numerose *Trichomonas*, che attrassero l'attenzione per la varietà di forme e dimensioni che presentavano. Alcune erano indubbiamente da ascriversi alla comune *Trichomonas batrachorum*, ma altre si presentavano troppo diverse per poterle ad essa attribuire. Non credo però di poterne fare delle nuove specie, perchè le varie forme di passaggio che si trovavano fra l'una e l'altra indurrebbero piuttosto a ritenerle come variazioni o forse varietà derivanti da

una o due specie. Riservandomi di ritornare sull' argomento appena avrò maggior quantità di materiale disponibile, do per ora una breve descrizione di tre di queste forme.

Molto numerose erano le *Trichomonas* rappresentate dalla fig. 17 (Tav. XIV), caratteristiche per la loro grandezza (25—35 μ) e per uno strozzamento al terzo posteriore del corpo. Avevano la membrana ondulante bene sviluppata, che descriveva un giro intero attorno al corpo; il suo filamento basale si distingueva chiaramente anche negli animali vivi. Il citostoma grande e piegato verso l'interno. I tre flagelli anteriori eguali e più lunghi del corpo. Il protoplasma racchiudeva dei grossi vacuoli, alcuni contenenti bacteri.

Un' altra forma (Tav. XIV, fig. 15), della quale ne osservai tre soli individui, aveva la parte posteriore unita al corpo propriamente detto mediante un filamento lungo e sottile, attorno al quale s'avvolgeva la membrana ondulante. Lunghezza 35 μ e un individuo 40 μ.

In altre *Trichomonas* (Tav. XIV, fig. 16 e 18) il corpo era quasi cilindrico, lungo 28—30 μ su 7—8 μ di larghezza. La membrana ondulante decorreva in linea retta ed il suo filamento basale era ricurvo all' estremità posteriore. In queste, più ancora che nelle precedenti, era nettamente visibile, anche sul vivo, quella serie di piccoli granuli, che stanno immediatamente sotto al filamento basale della membrana.

Tutte queste *Trichomonas* osservate su preparati colorati, presentavano la solita struttura della *T. batrachorum.* Come ho detto prima oltre alle suddette forme ce n'erano molte che costituivano dei passaggi intermedi fra l'una e l'altra.

Quali siano le cause che determinano le grandi diversità morfologiche di questi fiagellati endoparassiti, non ci sono ancor note. Certo è strano il trovare una tale varietà di forme nello stesso ospite, nel quale le condizioni di ambiente, ecc. dovrebbero essere eguali per tutti gli individui che alberga.

Milano, Acquario, febbraio 1910.

Bibliografia.

Alexeieff, A.: Les Flagellés parasites de l'intestin des Batraciens indigènes. C. R. Soc. Biol. T. 67 1909 p. 199.

—: Un nouveau Trichomonas à quatre flagelles antérieurs. C. R. Soc. Biol. T. 67 1909 p. 712.

Dobell, C. C.: Researches on the Intestinal Protozoa of Frogs and Toads. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53 1909.

Doflein, F.: Lehrbuch der Protozoenkunde. Jena 1909.

Grassi, B.: Intorno ad alcuni Protisti endoparassitici. Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Vol. 24 1882.

Laveran, A. et Mesnil, F.: Sur la morphologie et la systématique des Flagellés à membrane ondulante (genres Trypanosoma Gruby et Trichomonas Donné). C. R. Acad. Sci. Paris T. 133 1901.

Prowazek, S. v.: Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 21 1904.

Spiegazione della Tavola.

Tavola XIV.

Fig. 1—5. *Trichomonas* (*Tetratrichomonas*) *Prowazeki*. × 1200.
Fig. 1—2. Id, fiss. acido osmico, colorazione con Giemsa.
Fig. 3. Id., sublimato alcoolico ed ematossilina ferrica.
Fig. 4—5. Id., dal vivo.
Fig. 6—8. *Trichomonas* (*Trichomastix*) *orthopterorum*. × 1800.
Fig. 6—7. Id., dal vivo.
Fig. 8. Id., sublimato alc. ed ematossilina ferrica.
Fig. 9—14. *Rhynchomonas nasuta*, dal vivo. × 1800.
Fig. 9—10. Id., forme ordinarie.
Fig. 11—12. Id, due stadi di divisione.
Fig. 13. Id., prima d'incistidarsi.
Fig. 14. Id., cisti.
Fig. 15—18. *Trichomonas sp.* dell' intestino di Axolotl. × 1200.
Fig. 15—17. Id., dal vivo.
Fig. 18. Un individuo come quello della Fig. 16, ma fissato e colorato con ematossilina ferrica.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.)

Die Kernverhältnisse von *Fusiformis termitidis.*

Von

A. Hoelling,

Assistent am Institut.

(Hierzu Tafel XV.)

Die Frage nach der Existenz des vielfach angezweifelten Kernes der Bacterien und der ihnen nahestehenden, höher organisierten Protisten ist von jeher für die biologische Forschung von bedeutendem, wissenschaftlichen Interesse gewesen.

Wenngleich nun nach den Arbeiten von Bütschli, Schaudinn, Guilliermond, Swellengrebel, Arthur Meyer nicht anzunehmen ist, daß jemals für diese Organismen eine allgemein gültige, einheitliche Kernauffassung angebahnt wird, daß wir uns vielmehr damit begnügen müssen, für jede Gattung derselben die oft sehr versteckten und komplizierten Kernverhältnisse einzeln aufzudecken, so haben nichtsdestoweniger die Arbeiten von Vejdovský, Mencl und Swellengrebel dargetan, daß wir auch unter den nach Migula, Fischer kernlosen Protisten bisweilen ziemlich einfache und klare Kernverhältnisse antreffen.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Hartmann standen mir eine Anzahl Ausstriche (nach der Eisenhämatoxylin-Methode Heidenhain's gefärbt) zur Verfügung, welche zum Studium der Trichonymphiden aus dem Darminhalt von Termiten angefertigt waren. Es fanden sich darin Bilder von sog. fusiformen Bacillen,

deren Organisation wohl geeignet sein dürfte, einen Beitrag zu der viel diskutierten Frage der Monerenkerne zu liefern.

Bereits in der Arbeit von Mühlens u. Hartmann „Über *Bacillus fusiformis* und *Spirochaeta dentium*" findet sich eine kurze Notiz über diese eigentümlichen Organismen, der ich bezüglich des Kernproblems folgenden Satz entnehme: „Sie besitzen meistens wohlausgebildete Kerne, die sich durch Amitose vermehren."

Zum Beweise dieser Behauptung mögen die folgenden Zeilen dienen. Vorher sei mir eine kurze Bemerkung über die Bezeichnung „*Bacillus fusiformis*" gestattet. Da dieser Microorganismus nach der herrschenden Auffassung der Gattung *Bacillus* nicht zuzuzählen ist, so möchte ich vorschlagen, die bisher gebräuchliche Speziesbenennung *Fusiformis*, d. i. spindelförmig, als Gattungsnamen für die ganze Gruppe dieser spindelförmigen Organismen zu gebrauchen. Da wir bereits eine ganze Reihe wohl charakterisierter Einzelarten dieser Gruppe kennen, so dürfe vielleicht das Vorkommen Anhaltspunkte für die Speziesbenennung geben, so daß wir von *Fusiformis dentium*, *Fusiformis muris*, in unserem Falle von *Fusiformis termitidis* sprechen.

Die Kriterien für echte Kerne sind ziemlich unbestimmt und schwankend, doch könnten folgende Eigenschaften als am meisten charakteristisch für diese wichtigen Zellelemente gelten:

1. Der Kern hat im allgemeinen seinen bestimmten Platz in der Zelle.

2. Die Kernteilung muß in allen ihren Phasen bis zum völligen Freiwerden der beiden Tochterkerne zu beobachten sein.

3. Die Kernteilung darf nur in geraden Zahlenverhältnissen vor sich gehen. Die Teilung der neuentstandenen Tochterkerne findet unter normalen Umständen gleichzeitig statt, so daß die Kerne der Zelle in Zahlen 2, 4, 8, 16 usw. auftreten. Kernzahlen von 6, 10, 12 usw. sollen Ausnahmen bilden.

4. Die Tochterkerne müssen unter sich von ungefähr gleicher Größe sein.

5. Die Kerne müssen sich mit den gebräuchlichen Kernfarbstoffen färben, so daß, wie bei der häufig angewandten Giemsa- oder der polychromen Methylenblaufärbung, das Zellplasma sich blau, der Kern sich aber rot oder rotblau färbt. — Bei der Heidenhain'schen E.-H.-Färbemethode sind die Kerne dunkel gefärbt, und zwar entweder homogen oder sie weisen, wenn die Differenzierung gut gelungen ist, eine ganz bestimmte Struktur auf.



6. Unpaarige Zellelemente können nur dann als Kerne angesprochen werden, wenn ihre Herkunft von echten Kernen unzweifelhaft feststeht, indem wir alle Assimilationsprodukte wie Volutin, Fetttröpfchen, die leicht Kerne vortäuschen, ausschließen können. Unpaarige Kerne treten nur auf in den Fällen, wo aus irgendwelchen Gründen ein Zerfall der Kerne in Chromidien stattgefunden hat. —

Was nun die von mir studierten Fusiformen angeht, so treffen alle hier angegebenen Kernmerkmale für die von mir als solche angesprochenen Zelleinschlüsse zu. Es sei mir daher gestattet, der Einfachheit halber von ihnen von vornherein als von Kernen zu sprechen, wenngleich der Beweis erst im Verlaufe der Arbeit an der Hand der beigegebenen Zeichnungen erfolgen kann.

Ich lasse also eine kurze Beschreibung der Abbildungen folgen. Dieselben sind alle mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates entworfen und zwar mit Zeiss Imm. 2 mm, Apert. 130, Comp. Oc. 18, Auszug 160. Es handelt sich also um Vergrößerungen von 2700. Zur Färbung ist, wie bereits gesagt, bis auf wenige Bilder die Heidenhain'sche E.-H.-Methode angewandt.

Was die allgemeine Morphologie der Fusiformen betrifft, so ist das Protoplasma der Jugendformen ziemlich homogen; zuweilen sind die mäßig zugespitzten Enden etwas stärker gefärbt. Die größeren Zellen zeigen bisweilen eine Art alveolärer Plasmastruktur. Die Kerne sind im allgemeinen recht dunkel tingiert. Einige von ihnen sind oval geformt und zeigen deutliche Struktur, andere präsentieren sich, besonders bei einkernigen Zellen, als ein breites Band, welches in der Mitte der Zelle quer von der einen Außenmembran zur anderen sich hinzieht. Diese Kerne sind sehr dunkel gefärbt und es ist wohl anzunehmen, daß infolge der ungenügenden Differenzierung zwischen Kern und Zellmembran Farbe haften geblieben ist, wodurch sich die viereckige Form dieser Kerne zur Genüge erklärt.

Fig. 1, 2, 3 stellt jüngste Organismen dar. Der Kern befindet sich in der Mitte der Zelle. Bei Fig. 1 ist der Kern noch ganz kompakt und von eckiger Form, was nach der oben gegebenen Darstellung unschwer zu erklären ist. In Fig. 2 und 3 haben wir einen ovalen, aufgelockerten Kern, der offensichtlich kurz vor der Teilung steht, worauf besonders bei Fig. 2 die hellere Innenzone und die dunkel gefärbten Kernpole hindeuten. Bemerkt sei noch, daß die einkernigen Organismen seltener sind als die zweikernigen.

Fig. 4, 5 u. 6 stellt das Auseinanderrücken der freigewordenen Tochterkerne in verschiedenen Phasen dar. Übrigens gewinnt man



aus der ganzen Art der Kernteilung den Eindruck, daß es sich hier nicht um eine einfache Kerndurchschnürung, sondern mehr um eine Art Auseinanderstemmung handelt, eine Caryosomdesmose, wie sie von manchen primitiven Protozoenkernen bekannt ist.

Fig. 7, 8 u. 9 zeigt drei fortlaufende Entwicklungsstadien der Zelldurchschnürung. In Fig. 7 erblicken wir eine doppelseitige Einbuchtung am Zellkörper. Die Kerne haben sich verdickt und sind in die Mitte der im Entstehen begriffenen Tochterzellen gerückt. In Fig. 8 ist die Durchschnürung vollendet, aber eine Plasmabrücke hält die beiden neuen Individuen noch zusammen. Fig. 9 zeigt zwei Tochterzellen, die nur noch mit den äußersten Spitzen aneinanderkleben.

Fig. 10 u. 11 sind zwei vierkernige Organismen. Fig. 11 steht augenscheinlich kurz vor der Kernteilung.

In Fig. 12 u. 13 sehen wir bei 12 einen Organismus mit acht Kernen kurz nach der Teilung. Je zwei und zwei Kerne liegen noch sehr nahe zusammen. Fig. 13 zeigt ein ähnliches Bild mit dem Unterschiede, daß die Kerne schon weiter auseinandergerückt und dicker geworden sind.

Nach mündlicher Mitteilung von Herrn Professor Hartmann findet bei *Fusiformis dentium* bei vier-, acht- und mehrkernigen Organismen eine Aufteilung der Kerne nach rückwärts zu einkernigen Zellen statt, aus denen sich ihrerseits wieder vielkernige Individuen bilden können.

Fig. 14 zeigt einen achtkernigen Organismus, der die Querteilung nahezu vollendet hat, Fig. 15 einen vierkernigen, der sich in zwei zweikernige Tochterzellen teilt. Die Aufteilung von zweikernigen Organismen in einkernige könnte man in Fig. 7, 8 u. 9 erblicken.

Im allgemeinen scheinen schon die achtkernigen Zellen, sofern sie nicht zur Aufteilung kommen, der Degeneration anheimzufallen. Der Zellkörper wird massiger, dicker, die Kerne jedoch, wenngleich die Zahl acht oft noch nachzuweisen ist, sind verwaschen, teilweise geschrumpft. Das Zellplasma zeigt starre Plasmabrücken.

So dürften Fig. 16 u. 17 degenerierende Organismen vorstellen. Die Degeneration äußert sich darin, daß die Zelle dick, gleichsam aufgebläht ist, daß die Kernsubstanz sich auflöst und in Chromidien zerfällt, wobei allerdings zuweilen noch das Gesetz der Paarteilung nachweisbar ist. So kann man in Fig. 17 immerhin noch 16 Kerne erblicken, obgleich die Mehrzahl bereits durch Zweiteilung in kleine wandständige Chromidien aufgelöst ist.

Fig. 18 u. 19 zeigen einen Fusiformis aus einem Süßwassertümpel in Manguinhos (Rio). Wir sehen bei Fig. 18 das ziemlich

kleine, runde Caryosom in der Mitte der Zelle innerhalb der ungefärbten Kernsaftzone und einer leicht angedeuteten Kernmembran, also im Bau durchaus einem primitiven Protozoenkern gleich. Die Enden sind ziemlich dünn und spitz ausgezogen. Fig. 19 repräsentiert denselben Organismus mit zwei Kernen. Das Aussehen dieser Kerne läßt von vornherein einen Zweifel an der Kernnatur dieser Gebilde kaum zu.

Fig. 20 zeigt einen dem vorigen ähnlich gebauten Fusiformis aus dem Blinddarm einer Maus.

Fig. 21—25 endlich zeigen mehrere GIEMSA-gefärbte *Fusiformes dentium*, die große Ähnlichkeit aufweisen mit den *Fusiformes termitidis*, was Größe, Gestalt und Kerne anbelangt. Die Chromatinfärbung ist recht deutlich.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen erbringen den Beweis dafür, daß sich die Kerne eines bacterienähnlichen Organismus, ganz ähnlich wie die Kerne der höheren Zellen, durch Zweiteilung vermehren können. Wie ich schon eingangs erwähnt habe, liegen nur drei Fälle von Beobachtung echter Kerne bei bacterienähnlichen Organismen vor, nämlich gemäß dem Befunde von VEJDOVSKÝ bei *Bacillus gammari*, von SWELLENGREBEL bei *Bacterium binucleatum* und von MENCL bei einigen Bacillen aus *Periplaneta orientalis*, obgleich die Beobachtungen MENCL's von GUILLIERMOND in Zweifel gezogen sind. Von verschiedenen Seiten wird gegen den *Bacillus gammari* angeführt, daß es sich bei ihm nicht um einen Bacillus handelt, sondern um einen pilzähnlichen Organismus.

Man könnte das gleiche vielleicht gegen den von mir beschriebenen Organismus sagen; indessen zeigt er in gewissen Stadien (Fig. 16 u. 17), wo die Kerne sich bereits in Chromidien aufzulösen beginnen, eine fortschreitende, stets größer werdende Ähnlichkeit mit gewissen Bacterien, wie z. B. der *Bacillus bütschli* (SCHAUDINN) oder der *Bacillus maximus* (SWELLENGREBEL), die ein ziemlich kompliziertes Chromidialsystem an Stelle eines oder mehrerer einheitlicher Kerne aufweisen.

Diese Ähnlichkeit ist vielleicht von großer allgemeiner Bedeutung, da sie uns über Stellung und Entwicklung der Bacterien Aufschlüsse geben könnte, Aufschlüsse, die biologisch von sehr großer Wichtigkeit wären.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem sehr verehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. HARTMANN für die Überlassung dieser Arbeit und die stets bereite Beihilfe recht herzlich zu danken.

Literaturverzeichnis.

Bütschli (1902): Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 41.

Fischer (1897): Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bacterien. Jena (Gustav Fischer).

Guilliermond (1907): La cytologie des Bactéries. Bull. de l'Inst. Pasteur T. V.

— (1908): Contribution à l'étude cytologique des Bacilles endosporés. Arch. f. Protistenk. Bd. 12.

Hartmann u. Mühlens (1906): Über Bacillus fusiformis und Spirochaeta dentium. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 55.

Mencl (1904): Einige Beobachtungen über die Struktur und Sporenbildung bei symbiotischen Bacterien. Centralbl. f. Bacteriol. Abt. II Bd. 12.

— (1907): Nachträge zu den Strukturverhältnissen bei Bacterium gammeri. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

Meyer, A. (1899): Über Geißeln, Reservestoffe, Kerne, Sporenbildung. Flora Bd. 86.

— (1903): Vorlesung über Botanik. Botan. Ztg. Nr. 1.

— (1904): Über die Verbreitung des Volutins. Botan. Ztg. Bd. 62.

Migula (1897): System der Bacterien. Handbuch der Morphologie, Entwicklungsgeschichte und Systematik der Bacterien Bd. 1. Jena (Gustav Fischer).

Schaudinn (1902): Beiträge zur Kenntnis der Bacterien und verwandter Organismen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 306.

— (1903): Beiträge zur Kenntnis der Bacterien und verwandter Organismen. II. Bacillus sporonema n. sp. Ebenda Bd. 2.

Swellengrebel (1906): Zur Kenntnis der Cytologie von Bacillus maximus buccalis (Miller). Centralbl. f. Bacteriol. Abt. II Bd. 16.

— (1907): Bacterium binucleatum. Ebenda Abt. II Bd. 19 p. 193.

Vejdovský (1900): Bemerkungen über den Bau und die Entwicklung der Bacterien. Ebenda Abt. II Bd. 6 p. 577.

— (1904): Über den Kern der Bacterien und seine Teilung. Ebenda Bd. 11 p. 481.

Zettnow (1891): Über den Bau der Bacterien. Ebenda Bd. 10 p. 689.

Tafelerklärung.

Tafel XV.

Sämtliche Zeichnungen sind mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates entworfen; mit Zeiss Imm. 2 mm, Apert. 1,30, Oc. 18 Tubusauszug. Die lineare Vergrößerung dürfte nach Feststellung mit dem Objektivmikrometer etwa 2700 betragen. Fig. 1—20 wurden nach der bei uns gebräuchlichen E.-H.-Methode von Heidenhain gefärbt. Fig. 21—25 nach der von Prof. Schilling modifizierten Romanowsky-Methode.

Fig. 1. Ein Fusiformis mit einem Kern, der ziemlich patzig gefärbt ist.

Fig. 2 zeigt einen einkernigen Organismus, der ein gutes Bild abgibt mit seinem alveolären Protoplasma und seinem schönen ovalen, schon in Teilung begriffenen Kerne.

Fig. 3 zeigt beginnende Kernteilung.

Fig. 4—6 zeigen drei vollendete Stadien der Kernteilung.

Fig. 7. Beginn der Zelleinschnürung.

Fig. 8. Einschnürung fast beendet. Eine schmale Plasmabrücke hält allein die Verbindung zwischen den beiden Tochterzellen aufrecht.

Fig. 9. Letzte Phase der Zelldurchschnürung.

Fig. 10. 4kerniger Organismus.

Fig. 11. 4kerniger Organismus, mit 4 dicken, an den jedesmaligen beiden Enden stärker gefärbten Kernen, deutet auf baldige Teilung hin.

Fig. 12. Die Kernteilung ist vollendet.

Fig. 13. Die Kerne sind weiter auseinandergerückt, wie in Fig. 12, und dicker.

Fig. 14. Ein 8kerniger Organismus, der sich in 2- und 4kernige Tochterindividuen teilt.

Fig. 15. Eine 4kernige Zelle, die sich wiederum in zwei 2kernige aufteilt.

Fig. 16 u. 17. Eine 8- bzw. 16kernige Zelle, deren Kerne sich in Chromidien umbilden wollen. Die dicken, wie aufgebläht aussehenden Organismen machen bereits einen ziemlich degenerierten Eindruck.

Fig. 18 u. 19. Zwei Fusiformes aus Süßwasser in Manguinhos, 1- und 2kernig. Die Kerne mit Caryosom, Kernzone und Kernmembran sind einwandfrei.

Fig. 20. Ein Fusiformis aus dem Blinddarm der Maus.

Fig. 21—25. Verschiedene Formen von *Fusiformis dentium* nach Romanowsky-Schilling gefärbt. Fig. 21—23 mit 1, 2, 4 rotgefärbten Kernen. Fig. 24 ein unregelmäßiges, Fig. 25 ein regelmäßiges Kernteilungsbild.

(Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.)

Fakultativ parasitische Micrococcen in Amöben.

Von
Dr. **Kurt Nägler.**

(Hierzu Tafel XVI.)

In den Kulturen, die ich nach der bereits (1909) beschriebenen Weise auf Agarplatten angelegt hatte, durch Ausstrich einer dicken Kahmhaut aus einem ziemlich großen Aquarium des Instituts, ferner von der schleimigen Oberfläche einiger kleiner Goldfische, die sich darin befanden, trat neben kleineren *Limax*-Amöben auch eine größere Amöbenart auf, die eine überaus starke Infektion von Parasiten aufwies.

Da mir leider diese Kultur später einging und da ich obige Amöbenart noch nicht wieder in großen Mengen habe züchten können, so besitze ich nicht sehr viele Präparate der starken Infektion, deren Anfertigung sich auf einen Zeitraum von ca. 8 Tagen erstreckt. Obwohl ich auch noch öfters die Amöben in geringer Anzahl züchtete und sie teilweise lebend beobachtete, muß die Diagnose dieser infizierten Amöbenart ziemlich unvollkommen ausfallen, da ich sie als keine besondere Charaktere aufweisende Art nicht weiter verfolgt habe und ich bis jetzt noch keine einzige Kernteilung auf den Präparaten, die doch immerhin einige Hundert dieser Amöben enthalten, gesehen habe. Zum Teil ist dies wohl durch die später zu besprechende Kerndegeneration infolge der Infektion zu erklären.

Die Größe dieser Amöbe beträgt 15—25 μ. Das Ectoplasma ist ziemlich hyalin, was sich oft auch auf den fixierten Präparaten

gut sehen läßt. Das Entoplasma ist vacuolig gebaut, doch treten die Vacuolen durch die starke Parasiteninfektion meist nicht deutlich hervor, mit Ausnahme der contractilen Vacuole, die in Einzahl vorhanden ist. Der Kern ist ein typischer Caryosomkern mit Kernmembran und Spuren von Außenchromatin. Das Caryosom enthält auch bei dieser Form ein deutliches Centriol. Im allgemeinen ist die Amöbe mit der *Amoeba albida* Nägler (1909) verwandt, steht ihr aber an Größe nach. Die Frage, ob es sich eventuell um eine neue Art handelt, lasse ich vorläufig offen.

Auch die kleinen *Limax*-Amöben habe ich nicht bestimmt, da sie nichts Neues bieten.

Der Befund im Plasma der Amöben stellte sich nun zunächst folgendermaßen dar.

Es treten im Plasma bei den vegetativen Amöbenformen neben mancherlei Bacterienformen kleine rundliche, nach Heidenhain tief schwarz färbbare Körner und Körnchen auf, die auf verschiedenen Stadien immer größer werden (Fig. 2—9). Am größten sind sie bei den Amöben, die der Encystierung zuneigen (Fig. 9). Die typischen Bilder, die ich am häufigsten auf meinen Präparaten erhielt, stellen die Fig. 7 u. 8 dar.

Um was handelt es sich nun hierbei?

Um das Resultat der morphologischen Befunde und der Versuche vorweg zu nehmen, so deute ich obige Bilder als fakultativen Parasitismus einer Coccenart in den Amöben.

Wären diese Gebilde nur Nahrungsmittel der Amöben, so würden sie zu größeren und kleineren Haufen zusammengeballt in Nahrungsvacuolen liegen, wie ich es z. B. bei der *Amoeba albida* (Nägler 1909) beschrieben habe. Doch da dies nicht immer der Fall zu sein braucht, so möchte ich hierauf kein allzu großes Gewicht legen. Sehen wir doch, daß auch viele stäbchenförmige (Fig. 3, 5) und fusiforme Bacillen (Fig. 2, 11) regellos im Plasma verteilt liegen. Sie beeinflußten oft störend die Deutung der Bilder zunächst, bis es mir gelang, die kugelrunden Einschlüsse zu isolieren und sie nach später zu beschreibenden Versuchen auf eine andere Amöbenart überzuimpfen. Es handelt sich also bei obigen Gebilden um Parasiten.

Um nun über die Natur dieser Parasiten ins Reine zu kommen, um tatsächlich sie als Coccen ansprechen zu können, bedurfte es vieler Versuchsreihen. Ich hatte zunächst nur wenige Präparate von einer Agarplatte angefertigt. Leider ging die Amöbenkultur infolge Überwucherns zahlreicher anderer Bacterien bald ein und ich war genötigt, neue Kulturen anzusetzen, um die großen Amöben wieder

zu erhalten. Lange Zeit hindurch wollte dies nicht gelingen, da sie sich schwer züchten lassen, im Gegensatz zu den *Limax*-Amöben und der *Amoeba diploidea* (Nägler 1909). Als ich endlich wieder frisches Material zur Verfügung hatte, waren die Amöben bei weitem nicht so gut infiziert.

In der Zwischenzeit war es mir indessen möglich gewesen, eine andere kleinere Amöbe zu züchten, die ich auf Grund vergleichender Kernstudien — es traten bei der Kernteilung 6 Chromosomen auf — mit der *Amoeba horticola* (Nägler 1909) identifizieren möchte. Ich impfte die Agarplatten mit Bacterienmaterial von einer früheren Platte, auf der die großen Amöben eingegangen waren, und erhielt eine neue Infektion. In Fig. 18 ist eine derartige Amöbe mit den Parasiten abgebildet.

Auch am Schlusse der Untersuchungen gelang es mir nun mehrfach, die großen Amöben zeitweise zu züchten, und stets zeigten sie sich infiziert und ich konnte immer die Identität der Parasiten feststellen.

Zur Klärung der Sachlage trugen nun in erster Linie die Fälle bei, die in den Fig. 13—16 u. 18 abgebildet sind.

In den Fig. 13 u. 14 liegen nämlich die runden Bacterien nicht regellos verteilt im Plasma der Amöben, sondern in Haufenform, die teils kompakt, teils mit Ausläufern versehen sein kann, gewissermaßen in kolonialem Verbande, wie es ja von Coccen, Sarcinen, niederen Cyanophyceen usw. bekannt ist. Dieselben Kolonien lagen nun nach den Präparaten, wie es die Fig. 15 u. 16 zeigen, auch außerhalb der Amöben direkt neben ihnen, so daß dies unmittelbar darauf führen mußte, sie zu identifizieren. In Fig. 15 sind noch Cysten der kleinen Amöben zu sehen, die gleichfalls infiziert sind.

Um nun das Schicksal der Amöben und Coccen zu verfolgen bezüglich ihres gegenseitigen biologischen Verhaltens, wurden von Platten, auf denen die Amöben gut infiziert waren, neue Platten geimpft. Das Bild, das sich ergab an einer solchen Platte, einen Tag nach der Überimpfung, zeigt Fig. 18. Die Coccen liegen oft diplococcusartig oder in Tetraden zusammen und sind nach der Tetragenusform als Micrococcen zu bezeichnen. Das Plasma der größeren Amöbe trägt deutlich die Spuren des Zerfalls, so daß die Vermutung nahe liegt, daß die Coccen nach Zerstörung der Amöbe frei werden und sich analog den freien überimpften Coccen weiter vermehren. Die Coccen wuchern nun rasch und bilden koloniale Verbände, die im Verein mit anderen Bacterien alle Amöben nach und nach zum Absterben bringen. Daraus erklärt es sich auch, daß die

Amöben relativ schwer zu züchten sind. Nur wenn das übergeimpfte Material recht dünn auf der neuen Agarplatte ausgestrichen wurde, womöglich von encystierten Amöben, war Aussicht vorhanden, daß infolge verhältnismäßig geringeren Bacterienwachstums die Amöben sich weiter züchten ließen. Allein das jedesmalige Endresultat bestand darin, daß die Agarplatten nur noch Bacterien enthielten, jedoch keine Amöben mehr, höchstens noch Cysten der kleinen *Limax*-Amöben, die scheinbar geringer infiziert sind und schwerer absterben.

Die Fig. 19 zeigt vegetative Formen dieser kleinen *Limax*-Amöbe, die plasmodienähnlich dichtgedrängt liegen, ohne daß es aber zu einer Verschmelzung käme. Es kann sich mithin nicht um Myxomyceten handeln. Die kleinen Flagellaten, die oft im Wasser gleichzeitig auftraten, gehören infolge ihres typischen Caryosomkernes, der in der Mitte des Körpers liegt, nicht zu Myxoflagellaten, so daß obige kleine Amöben sicher der *Limax*-Gruppe angehören. Das Plasma ist äußerst vacuolig gebaut, doch mag dies eventuell an der Fixation, die nach Flemming vorgenommen wurde, liegen. Vorläufig habe ich diese Amöben nicht weiter untersucht, behalte mir aber vor, später über sie sowie über die kleinen Flagellaten und mannigfachen kleinen Cysten, die im Wasser gleichzeitig vorhanden waren, im Zusammenhang zu berichten, sofern sie einiges Interessante zeigen. Auch Chytridiaceen, wie sie Chatton und Broadsky (1909) von der *Amoeba limax* beschreiben, als zu der Gattung *Sphaerita* Dangeard gehörig, habe ich einmal beobachtet.

Nun zu den Lebendbeobachtungen! Man sieht auf den Präparaten, die durch Ausstrich der Kahmhaut hergestellt sind, oft größere Amöben, die mit obigen Coccen infiziert sind. Ferner sind zu sehen kleinere Cysten, von denen es fraglich ist, ob sie zu den größeren Amöben oder zu denen der *Limax*-Gruppe gehören. Die Coccen schimmern hellgrünlich aus dem Plasma hervor und befinden sich oft in zitternder Bewegung, die aber keine Eigenbewegung ist, sondern der Molekularbewegung im vacuoligen Plasma zuzurechnen sein dürfte.

Auch hier zeigen gerade die Cysten oft die größten hellglänzenden Körner, die so groß wie der Kern werden können. Die Körner lagen auch öfters außerhalb der Cysten und weisen deutlich im Innern wieder eine feine Körnelung auf, so daß es äußerst fraglich ist, ob sie mit den Coccen etwas zu tun haben. Sie werden vielmehr eher zu Chytridiaceen gehören und weitere Untersuchungen werden darüber erst Aufschluß bringen. Bei Intravitalfärbung der Amöben mit Neutralrot treten größere blaßrote Flecke hervor, die

mit Farbstoff imprägnierte Plasmavacuolen darstellen. Die kleineren intensiver gefärbten sind die Coccen. Der Kern ist meist schwächer gefärbt als die Coccen.

Daß es sich um Coccen handelt, nicht um Entwicklungsstadien eines Protisten, läßt Fig. 12 erkennen, wie häufig größere Amöben in Vacuolen zahlreiche kleinere enthalten auf verschiedenen Größenstadien neben den dunklen Körnern. Ehe nun die Körner als parasitäre Coccen erkannt wurden und als ihre Natur überhaupt im Unklaren lag, bestand die Vermutung, daß zwischen beiden etwa ein Zusammenhang bestände derart, daß um die dunklen Körner sich allmählich ein Plasmasaum bilde und sie dann nach und nach zu kleinen parasitären Amöben heranwüchsen. Doch ist dies jetzt als ausgeschlossen anzusehen. Vielmehr sind es kleinere *Limax*-Amöben, die von der größeren Amöbe gefressen worden sind, wie es schon bei der *Amoeba albida* (Nägler 1909) beschrieben worden ist, und allmählich resorbiert werden. Auch sind sie, wie deutlich zu sehen ist, selbst von den Coccen infiziert. Es liegt mithin kein Entwicklungsstadium vor uns, wie z. B. bei *Allogromia* in *Amoeba proteus* (Prandtl 1907). Kommen doch auch ganz getrennt auf verschiedenen Präparaten große Amöben vor, die überhaupt nicht infiziert sind, sondern ein gleichmäßiges vacuoliges Plasma aufweisen ohne irgendwelche Einschlüsse (Fig. 1), neben solchen, die nur gefressene Amöben enthalten.

Auf Grund der zu beschreibenden Teilungsbilder (Fig. 20 u. 21) der Coccen ließ sich noch eine andere Vermutung anschließen, daß es sich nämlich eventuell um Beziehungen dieser Körner zu den *Chlamydozoa* (Prowazek 1907) handele. In einer Arbeit über die Ätiologie des Trachoms haben Leber und Hartmann (1909) nach Abbildungen eines Präparates von mir die Ansicht ausgesprochen, daß obige Körner „gewissermaßen plasmalose Kernformen eines parasitischen Protozoons“ vorstellen, die, von einem hellen Hof umgeben, sich hantelförmig teilen sollen. Doch ist der helle Hof um die Körner meist nicht vorhanden, nur auf Präparaten, auf denen das Plasma der Amöbe grobvacuolig fixiert ist. Er dürfte weiterhin auch ebensogut den im Plasma liegenden Coccen zukommen wie irgendwelchen anderen Einschlüssen teils parasitärer, teils nichtparasitärer Natur. Mit der Teilung verhält es sich folgendermaßen. In Fig. 20 sind Teilungsstadien der Körner abgebildet aus dem Plasma der Amöben, die eine einfache Durchschnürung zeigen nach Bacterienart. Es kann hierbei des öfteren zu länger ausgezogenen Stadien kommen, doch dürfte dies durch Plasmafäden der Amöben in unserem

Falle vorgetäuscht sein, wie man sie auf den Präparaten oft zwischen den Coccen sich hinziehen sieht. In Fig. 22 sind Teilungsstadien der freilebenden Coccen zu sehen, vergrößert nach der Fig. 18. Sie teilen sich vollkommen analog sarcinamäßig, und auf Grund dieser Analogie halte ich mich hauptsächlich für berechtigt, die Körner in den Amöben mit Coccen zu identifizieren. Andererseits kann auch ich bestätigen, daß, wie LEBER u. HARTMANN erwähnen, „hanteltörmig sich teilende Parasiten in Amöben vorkommen, die sich später in echte kleine Protozoen von etwa $^1/_2$—1 μ Größe verwandeln, wobei man deren Zellnatur nur an feucht fixierten Präparaten nachweisen kann“. Auch Herr Dr. BERLINER und Fräulein Dr. ERDMANN haben Präparate, auf denen sich größere Parasiten in Amöben befinden, deren Bearbeitung ich zur Klärung der Sachlage übernommen habe. Im vorliegenden Falle jedoch handelt es sich wahrscheinlich um echte Coccen.

Um die Ausschaltung von mancherlei Möglichkeiten, die für die Natur der Körner in Betracht kamen, vollkommen zu machen, weise ich nur kurz darauf hin, daß der Einwand, es handele sich um Kern- oder Plasmaprodukte, durch die Übertragungs- und Impfversuche widerlegt ist. Weder Volutinkörper oder Öltropfen, noch Verdauungsreste von Bacterien oder kleinen Amöben kommen in Betracht, vielmehr beweist das Wachstum und die Teilung der Körner, daß es sich um Organismen handelt.

Als Begleiterscheinung der Infektion trat immer eine Kerndegeneration auf, die sich zunächst in trophischer Größenzunahme äußert. Schon an und für sich ist der Kern der Amöbe ziemlich groß im Vergleich zu den Kernen der früher untersuchten Amöben (NÄGLER 1909), doch durch die Infektion schwillt er noch mehr an, zeigt oft ganz unregelmäßigen Bau (Fig. 23), ja zerfällt mitunter in mehrere Einzelstücke (Fig. 6, 23, 24). In Fig. 8 ist die Kernmembran bereits angegriffen und korrodiert; in Fig. 10 ist eine kernlose Form abgebildet, wie man sie häufig sieht. Es ist ja klar, daß der Einfluß der Infektion sich auch am Centralorgan der Zelle in irgendeiner Weise äußern muß, wie es auch weiterhin durch die Verhinderung der Kernteilung, die ich noch in keinem Falle gesehen habe, zutage tritt.

Was das biologische Verhalten anbelangt, so dürfte aus dem Vorhergehenden der Schluß zu ziehen sein, daß es sich um einen fakultativen Parasitismus der Coccen in den Amöben handelt. Vielerlei Bacterien bilden die Nahrung der Amöben, auch obige Coccen mögen oft von den Amöben gefressen werden, sobald sie in geringer

Anzahl aufgenommen werden. Doch meist ist dies nicht der Fall. Sie verhalten sich vielmehr der Verdauung gegenüber sehr resistent, leben in den Amöben weiter und pflanzen sich durch Zweiteilung fort. Sind sie erst in größerer Anzahl vorhanden, so ist das Schicksal der infizierten Amöben besiegelt. Sie gehen rettungslos zugrunde. Die Art der Infektion geht wahrscheinlich so vor sich, daß zunächst einzelne Coccen von den Amöben bei der Nahrungssuche mit aufgenommen werden. Ein anderer Infektionsmodus kann sekundär von den gefressenen kleinen *Limax*-Amöben ausgehen, indem die Coccen nach deren Resorption in das Plasma der großen Amöbe übertreten.

Bei den Versuchen, andere Amöbenarten mit den Coccen zu infizieren, verwendete ich auch die *Amoeba diploidea* (Hartmann u. Nägler 1908). Doch in keinem Falle fand eine Infektion statt, was ich damit erklären möchte, daß diese Art gegen selbsttätige Einwanderung der Coccen durch ihre Pellicula geschützt ist, ferner durch die zähere Konsistenz des Plasmas. Für derartige Infektionsversuche bietet sich noch ein reiches Feld der Möglichkeiten, und ich hoffe hierzu eine kleine Anregung gegeben zu haben.

Von anderen schon beschriebenen Fällen über Parasitismus von Coccen in Protisten sind mir folgende bekannt geworden. Dangeard (1896) beschreibt einen *Micrococcus* im Protoplasma der Myxamöben der Gattung *Sappinia*, der wahrscheinlich auch in anderen Rhizopoden vorkommt. Die lebhafte Bewegung der Coccen könnte zu Verwechselungen mit Zoosporen von Chytridiaceen Anlaß geben, doch die Fortpflanzung durch Zweiteilung gibt hier Aufschluß. Auch er bildet schon kolonie-ähnliche Anhäufungen dieser Bacterien ab (p. 11).

Einen weiteren Fall stellt *Caryococcus hypertrophicus* Dangeard (1902) in *Euglena deses* dar. *Caryococcus* ruft eine Kernhypertrophie bis zu $^2/_3$ des Zellvolumens hervor. Die Euglenen werden farblos, d. h. es tritt eine Unterdrückung der holophitischen Ernährung durch Zerstörung der Chlorophyllkörner ein. Es treten rötliche Granula auf; die Bewegung der Euglenen wird beibehalten, doch kommt es zu keiner Teilung. „Le noyau est rempli par une zooglée qui n'est pas sans analogie avec celle de l'*Ascococcus Billrothii*.“ — Auch Wenyon (1907) bildet parasitische Coccen in einer Amöbenart ab.

Symbiosen sind bekannt bei *Pelomyxa* (Bott 1907), deren Gattungsbezeichnung Penard vom Vorkommen symbiotischer Bacterien abhängig macht. Nach Broune sind es Stäbchenbacterien,

die keinen schädigenden Einfluß ausüben sollen. Ferner erwähnt Pinoy (1907) Symbiose von Bacterien bei *Plasmodiophora brassicae*, um dann aber umgekehrte Fälle von Parasitismus mehrerer Myxomyceten auf Bacterienkolonien anzuführen. *Dictyostelium mucroides* kann nur in Verbindung mit einem lebenden Bacterium existieren. Der Einfluß des Milieus der Kultur und der Bacterienart auf die Entwicklung obiger Art ist variabel. Die Bacterien werden verdaut in Vacuolen mit Hilfe eines Fermentes. Bestätigende Untersuchungen hat Verf. an *Dictyostelium purpureum* und *Polysphondylium violaceum* vorgenommen. Weiterhin spricht er dann von den sog. „cultures pures mixtes", d. h. Kulturen der Myxamöben mit einer einzigen Bacterienart.

Wie aus obigen Fällen zu ersehen ist, sind Bacterien also teils Parasiten, teils Nahrungsmittel verschiedener Protisten, und der von mir beschriebene Fall würde einem fakultativen Parasitismus zuzurechnen sein.

Kurz erwähnen möchte ich außerdem noch die Gonococcen als Analogie, die als Krankheitserreger sowohl intracellulär wie extracellulär vorkommen können.

Literaturverzeichnis.

Bott, K. (1907): Über die Fortpflanzung von Pelomyxa palustris. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.

Chatton, E. u. Broadsky, A. (1909): Le parasitisme d'une Chytridinée du genre Sphaerita Dangeard chez Amoeba limax Duj. Etude comparative. Arch. f. Protistenk. Bd. 17.

Dangeard, P. A. (1896): Contribution à l'étude des Acrasiées (Sappinia pedata n. g. n. sp.). Le Botaniste 5 p. 1—20.

— (1902): Sur le caryophysème des Eugléniens. C. R. Acad. Sci. 134 p. 1365—1366.

Hartmann, M. u. Nägler, K. (1908): Copulation bei Amoeba diploidea n. sp. mit Selbständigbleiben der Gametenkerne während des ganzen Lebenscyclus. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin Nr. 4.

Leber, A. u. Hartmann, M. (1909): Untersuchungen zur Ätiologie des Trachoms. Klin. Jahrb. Bd. 21.

Nägler, K. (1909): Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben. Arch. f. Protistenk. Bd. 15.

Pinoy (1907): Rôle des Bactéries dans le développement de certains Myxomycètes. Ann. Inst. Pasteur Bd. 21.

Prandtl, H. (1907): Entwicklungskreis von Allogromia. Arch. f. Protistenk. Bd. 9.

Prowazek, S. v. (1907): Chlamydozoa. Arch. f. Protistenk. Bd. 10.

Wenyon, C. M. (1907): Observations on the Protozoa in the Intestine of mice. Arch. f. Protistenk. Suppl. I.

Tafelerklärung.

Tafel XVI.

Sämtliche Figuren sind bei ZEISS Imm. 0,2 mm und den Komp.-Ok. 12 oder 18 mit dem ABBE'schen Zeichenapparat entworfen. Bei den Fig. 1—19 ist die Vergrößerung ca. 1800 fach, bei den Fig. 20—24 ca. 2250 fach; alle sind nach mit FLEMMING'scher Flüssigkeit fixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Deckglasausstrichen gezeichnet.

Fig. 1. Nicht infiziertes Individuum der *Amoeba sp.*

Fig. 2—6. Anfangsstadien der Cocceninfektion teils mit, teils ohne fusiforme Bacterien und Bacillen.

Fig. 7 u. 8. Typische Bilder der regellos im Plasma verteilten Micrococcen.

Fig. 9. Ein der Encystierung zuneigendes Individuum mit großen Micrococcen; Endstadium.

Fig. 10. Kernlose infizierte Amöbe.

Fig. 11. Amöbe nur mit fusiformen Bacillen.

Fig. 12. Große infizierte Amöbe mit gefressenen, teils schon resorbierten kleinen *Limax*-Amöben.

Fig. 13 u. 14. Koloniale Verbände der Micrococcen in den Amöben. (In Fig. 13 liegen zwei gefressene kleine *Limax*-Amöben in einer Vacuole.)

Fig. 15 u. 16. Infizierte Amöben mit daneben liegenden kolonialen Verbänden der Micrococcen und *Limax*-Cysten.

Fig. 17. Künstlich infizierte *Amoeba horticola* NÄGLER.

Fig. 18. Absterbende infizierte und frisch übergeimpfte Amöbe, daneben Micrococcen in Diplococcus- und Tetragenus-Form. Rechts unten eine *Limax*-Amöbe.

Fig. 19. Uninfizierte *Limax*-Amöben und Cysten, die dicht aneinander gedrängt liegen.

Fig. 20. Stärker vergrößerte Micrococcen aus dem Amöbenplasma.

Fig. 21. Stärker vergrößerte freie Micrococcen der Fig. 18 von der Agarplatte.

Fig. 22—24. Kernabnormitäten und Degenerationen. Zerfall des Kernes in mehrere Stücke. Vergl. auch Fig. 6.

(Aus dem Zoologischen Institut in Heidelberg.)

Untersuchungen über *Actinosphaerium eichhorni.*

Von
Wladimir M. Borowsky.

(Hierzu Tafel XVII u. XVIII.)

Material und Methodisches.

Die Actinosphärien, welche zum Ansetzen der Kulturen benutzt wurden, stammten aus zwei verschiedenen Fundorten (aus den Hockenheimer Moortümpeln und aus den Aquarien im Hofe des Zoologischen Instituts). Sie wurden mit einigen Wasserpflanzen in größere oder kleine Schalen gebracht und hauptsächlich mit Paramäcien gefüttert, von denen immer ein großer Vorrat in Salatkulturen bereit gehalten wurde. Waren in einem Schälchen zufällig keine Paramäcien mehr vorhanden, so nahmen die Actinosphärien auch kleine Rotatorien, Naupliuslarven usw. auf. Auch Fütterung mit *Stentor coeruleus* wurde versucht, die Resultate waren dieselben, wie bei der Fütterung mit Paramäcien. Dagegen spielten die Temperaturverhältnisse eine merkliche Rolle, was am besten durch einen Auszug aus dem Tagebuch gezeigt werden kann.

29./X. 1908	20°	1 Act.	11,5°	1 Act.
30.	21°	2 „	11°	1 „
31.	19	3 „	11	2 „
1./XI.	20	5 „	10,5	3 „
2.	20	6 „	10,5	3 „
3.	19,5	8 „	11	4 „
4.	19	10 „	11	6 „
5.	20	16 „	11	8 „
6.	20	21 „	11	9 „
7.	20	26 „	11	11 „

Die Actinosphärien vermehrten sich also bei einer Temperatur, die um 20° schwankte (in Kulturen, welche im Laboratorium selbst aufgestellt waren), ungefähr zweimal so schnell als die, welche bei 11° gezüchtet wurden. Letztere Kulturen befanden sich auf dem kalten äußeren Gang. Ähnliche Resultate wurden bei allen Zählkulturen erhalten.

In meinen Futterkulturen vermehrten sich die Tiere bis auf ungemein viele Exemplare. Sehr häufig konnte man dabei Plastogamien beobachten. Die Actinosphärien vereinigten sich zu Klumpen von sehr beträchtlicher Größe, in denen man manchmal noch die ursprünglichen einzelnen Tiere leicht erkennen konnte. Diese Vermehrungsperiode dauerte gewöhnlich ungefähr 2—2½ Monate (z. B. 24./X. 1908—22./XII. 1908; 1./XI. 1908—12./I. 1909; 10./IV. 1909—2./VII. 1909. Die Enddaten können natürlich nur einen annähernden Wert haben). Dann kam eine Periode, wo die Tiere aus der Kultur durch Encystierung oder Absterben bis auf einige wenige Exemplare verschwanden, welche sich äußerlich durch nichts von den anderen unterschieden. Diese überlebenden Tiere vermehrten sich dann nach einer Pause von 5—6 Tagen wieder sehr lebhaft, bis wieder ein Aussterben eintrat. Der ganze Vorgang kann sich dann mehrere Male wiederholen, bis schließlich die Kultur ganz zugrunde geht.

Um Hungerzustände der Actinosphärien zu bekommen, wurden die Tiere erst in reinem Kulturwasser, welches mehrere Male gewechselt wurde, gewaschen und dann jedes einzeln in Uhrschälchen gehalten. Um das mögliche Minimum an Objekten, die zur Nahrung dienen konnten, zu erreichen, bekamen die Tiere in diesen Uhrschälchen nur Kulturflüssigkeit, welche vorher mittels Luftdruck durch eine Tonzelle filtriert wurde. Das Uhrschälchen wurde mit einem zweiten, angeschliffenen, gleich großen zugedeckt und unter einer Glasglocke in feuchter Atmosphäre gehalten. Die Flüssigkeit wurde jeden dritten Tag erneuert. Unter solchen Bedingungen konnten die Actinosphärien noch 14—18 Tage weiter leben.

Über Verhalten des *Actinosphaerium* bei schwachem Andrücken mit dem Deckglas.

Bringt man ein *Actinosphaerium* auf einen Objektträger und preßt das Deckglas ganz schwach an, so sieht man, daß das *Actinosphaerium* beginnt, die im Protoplasma vorhandenen Nahrungsballen auszustoßen, was auf zweierlei Weise geschehen kann. Entweder wächst die Nahrungsvacuole durch Ansammlung von Flüssigkeit, wird dabei allmählich bis an den äußersten Rand des Körpers geschoben und durch Aufplatzen entleert. Oder es tritt ein Protoplasmafortsatz aus dem Tier heraus, der die Vacuole mit dem Nahrungsballen einschließt (Fig. 2, 4, 6); dann beginnt das Protoplasma zurückzuströmen (Fig. 6b), wird allmählich wieder ganz hereingezogen und der Fremdkörper bleibt außerhalb des Tieres zurück. Sind alle Nahrungskörper ausgestoßen, so folgt darauf oft noch eine andere Erscheinung, nämlich das Ausstoßen einer größeren Menge von Protoplasma. Eine sehr einfache Form dieses Prozesses ist in Fig. 5 dargestellt. Es fließt hier ein großer abgeflachter Protoplasmatropfen aus dem Tier heraus. In anderen Fällen sieht man aus dem *Actinosphaerium* Protoplasma von feinkörniger, nicht vacuolärer Beschaffenheit austreten, welches wie ein Saum das Tier umgibt (Fig. 1, 3). Dieser Saum kann sich auf einen größeren Teil der Oberfläche ausdehnen, z. B. mehr als die Hälfte des Tieres umfassen. Sein äußerer Rand bildet gewöhnlich eine Menge feiner, pseudopodienartiger, zugespitzter Fortsätze (Fig. 1). Der Saum wird allmählich breiter und verliert später den Zusammenhang mit dem Tiere. Oder man sieht auch statt eines Saumes (zuweilen auch zugleich mit einem solchen) lappige, fingerförmige, gezackte Fortsätze oft gleichzeitig von verschiedenen Stellen der Oberfläche ausgehen (Fig. 2), welche sich immer weiter ausstrecken und sich zuletzt ganz abtrennen. Ebenso kann von den echten Pseudopodien des *Actinosphaerium* sich ein ganz feines Netz weit ausbreiten, so daß es mehrere Pseudopodien untereinander verbindet (Fig. 4). Auch ein solches Netz trennt sich allmählich ganz von dem Tiere ab.

Hat das *Actinosphaerium* nun auf irgendeine Art eine, je nach dem einzelnen Falle größere oder kleinere Menge Protoplasma ausgestoßen, so nimmt es wieder seine normale Kugelgestalt an. Der Durchmesser des Tieres ist nun kleiner geworden, und zwar genau um so viel kleiner, daß es jetzt unter dem Deckgläschen genügend Platz hat und nicht mehr von diesem gedrückt wird. Nimmt man jetzt ein solches Tier heraus und bringt es wieder in ein Kulturglas,

so enthält es nach kurzer Zeit wieder Nahrungsballen und zeigt überhaupt keinerlei krankhafte Erscheinungen. Läßt man das *Actinosphaerium* unter dem Deckglase und preßt es mit diesem von neuem schwach an, so kann sich der ganze Vorgang der Protoplasmaabstoßung noch ein bis mehrere Male wiederholen.

Die körnigen Bestandteile des Protoplasmas.

Die Körnchen im Protoplasma von *Actinosphaerium* sind schon sehr lange bekannt. Zuerst wohl erwähnt durch DUJARDIN (1841): „Im Innern (d. h. der Actinophryen) sind nur Körnchen (des granules) von verschiedener Größe und oft sehr große Vacuolen wahrzunehmen" (S. 260). KÖLLIKER beschreibt sie in seiner Arbeit: „Das Sonnentierchen *Actinophrys sol* (1848) als „im Protoplasma" „in großer Zahl vorhandene dunkle Körnchen"; er sagt noch: „diese Körnchen sind rundlich, dunkel, sehr klein, in Säuren und Alkalien unlöslich und daher wahrscheinlich Fett"; und weiter: „diese Körnchen werden aus der Nahrung gebildet und beim Fasten wieder aufgezehrt" (S. 200 ff.) F. E. SCHULZE (1874) unterscheidet zwei Arten von Körnchen, „kleinere blassere und größere stärker lichtbrechende und daher dunkler und glänzender erscheinende Körnchen. Während die kleineren in großer Menge und ziemlich gleichmäßig verteilt durch alle Stränge und Platten der Rindenschicht, sowie der Pseudopodienmasse vorkommen, sind die größeren, dunklen, glänzenden Körnchen, welche besonders zahlreich in der Markmasse vorkommen, reichlicher in den tieferen, der Markmasse näher liegenden Regionen der Rinde, als in den äußeren und in den Pseudopodien anzutreffen, obwohl sie ebenso wie die blasseren wandern und selbst in die Pseudopodien gelegentlich hineingelangen. Auch finden sich die dunklen Körnchen bei verschiedenen Individuen in sehr verschiedener Anzahl, wahrscheinlich je nach der mehr oder minder reichlichen vorausgegangenen Nahrungsaufnahme." Weiter heißt es hier, daß ein solcher Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme für die dunklen, nicht aber für die kleineren blasseren gelten könne (S. 332). In der Arbeit von K. BRANDT (1877) finden wir für die uns interessierende Frage eine Bestätigung der von SCHULZE beschriebenen Verhältnisse. Über Körnchen, welche in Molekularbewegung begriffen sind, lesen wir zum erstenmal bei GREEFF (1877) über ein encystiertes Tier. Hier heißt es: „Das eigentliche Plasma der encystierten Kugel besteht aus gröberen, dunkeln und glänzenden Körnchen und einer äußerst feinen Körnermasse, die nach außen getreten eine sehr lebhafte

Molekularbewegung zeigt“ (S. 171). — Bütschli (in Bronn 1880—82) erwähnt solche Körnchen für die Heliozoen: „gröbere, teils ungefärbte, teils gefärbte körnige Einschlüsse“, wahrscheinlich „entsprechend den sog. Exkretkörnchen der Rhizopoden. Dazu gehören auch die feinen Körnchen, welche häufig in Molekularbewegung in den Rindenvacuolen des *Actinosphaerium* angetroffen werden.“ Auch Bütschli nimmt ebenso wie Kölliker und Schulze für die Körnchen des *Actinosphaerium* einen Zusammenhang mit der Nahrungsaufnahme an, indem er schreibt: „bei *Actinosphaerium* sind kleine dunkle Körnchen vorzugsweise reichlich in der Marksubstanz (Entosarc) angehäuft, welche vorzüglich hierdurch ihre dunkle Färbung erhält. Hiermit stimmt überein, daß hier die Marksubstanz auch der Sitz der Assimilation ist“ (S. 277 ff.). — Brauer, der eine Arbeit über die Encystierung bei *Actinosphaerium* veröffentlicht hat (1894), beschrieb besondere Körnchen, die sich bei der Encystierung bilden. Er bemerkt, daß bei einem Tier, welches sich encystieren will, „die Marksubstanz mit gröberen Körnern erfüllt erscheint“. „Es sind kleine, oval geformte, platte Scheibchen,“ welche „ganz auffallend an die Dotterkörner“ „erinnern“. „Es liegt nahe, ihnen eine ähnliche Bedeutung für die Cyste zuzuschreiben, wie den Dotterkörnern für das Ei.“ Brauer betont, daß die Bildung dieser Dotterkörner „in engem Zusammenhange“ „mit der Encystierung steht“ (S. 192). Im Jahre 1897 erschien eine vorläufige Mitteilung von M. v. Przesmycki (die ausführliche Arbeit konnte ich nicht auffinden). Wir lesen hier: „nach der Behandlung des *Actinosphaerium* mit einem modifizierten Neutralrot“ „erscheinen drei Arten von Körnchen:

1. die größten; hauptsächlich ovale, blaß rosa gefärbten Körnchen,
2. bedeutend kleinere, hauptsächlich rundliche, dunkelviolett gefärbte Körnchen,
3. die kleinsten; sehr kleine, feine Pünktchen, mit wenig deutlicher Färbung.“

Der Autor vermutet, daß „die Protoplasmakörnchen der zweiten Art wirkliche Bacterien waren“. Im Ganzen ist die Mitteilung zu kurz abgefaßt, als daß man diese drei Arten von Körnchen (mit Ausnahme vielleicht noch der ersten) sicher identifizieren könnte. — R. Hertwig beschrieb in seiner großen Arbeit über „Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium Eichhorni*“ (1899) die körnigen Bestandteile des Actinosphärienprotoplasmas wie folgt. „Bei Actinosphärien, die lebend mit Methylgrünessigsäure behandelt werden, färbt sich das Protoplasma sehr intensiv, und zwar in demselben besonders ovale Körperchen, die ich bei meinen

vielen Präparaten nur einmal noch intensiv gefärbt fand bei Schnitten durch *Actinosphaerium*, die mit Gentianaviolett gefärbt worden waren. Merkwürdigerweise werden die betreffenden Körperchen bei intravitaler Färbung mit Neutralrot auffallend deutlich, wie v. Przesmycki nachgewiesen hat" (S. 636). Weiter finden wir (auf S. 648, 649) über das Protoplasma des in Encystierung begriffenen *Actinosphaerium* angegeben: „In demselben entwickeln sich rundliche, schon von F. E. Schulze beobachtete Körner, die bis dahin fehlten; sie werden von Brauer, der sie zuerst genauer untersucht hat, als ovale platte Scheiben geschildert ..." „Man wird wohl nicht fehl gehen, wenn man die Körper mit den Dotterplättchen der Eier vergleicht." Das ist schwer verständlich; denn Schulze hat doch die Encystierung von *Actinosphaerium* gar nicht untersucht, sondern ein normales *Actinosphaerium* beschrieben. Daher können die Brauerschen Dotterplättchen, welche auch nach Hertwig vorher fehlen sollen, um sich erst bei der Vorbereitung zur Encystierung zu entwickeln, nicht identisch sein mit den von F. E. Schulze beobachteten gewöhnlichen Körnchen, die durchschnittlich bei jedem Exemplar vorhanden sind. — In seiner Arbeit „Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung" (1902) schrieb Hertwig folgendes: „Bei einem in Verdauung begriffenen *Actinosphaerium* finden sich außer den Kernen im Protoplasma zerstreut noch kleine Körperchen, welche ich „Chromidien" nennen will, weil ihre Substanz höchst wahrscheinlich mit dem an Nucleolarsubstanz gebundenen Chromatin des Kernes identisch ist" (S. 64). Genauer beschrieb Hertwig diese „Chromidien" in einer späteren Arbeit (1904). Hier lesen wir: „Die Chromidien sind merkwürdigerweise von allen früheren Untersuchern übersehen worden, auch von mir in meiner ausführlichen Darstellung der Kernteilung, Befruchtung und Encystierung von *Actinosphaerium*; sie sind feine oder gröbere Körner oder Stäbchen, oder dreieckige oder schwach verästelte Körperchen, die sich genau färben, wie die Substanz des Amphinucleolus; sie bestehen auch unzweifelhaft aus einem Gemisch von Chromatin und Nucleolarsubstanz. Sie liegen in den Maschenwänden zwischen den Vacuolen, oft dicht beieinander, so daß die Maschenwände an Imbibitionspräparaten fast gleichförmig rot gefärbt sind, was wohl Ursache ist, daß die Chromidien so lange übersehen worden sind; sie finden sich viel reichlicher in der Markschicht als in der Rinde und können in letzterer ganz fehlen. Unzweifelhaft stammen sie aus dem Kern, aus welchem sie heraustreten. Ich habe das nicht am lebenden Tier beobachten können, sondern aus Präparaten abgetöteter, stark assimilierender Tiere erschlossen ..."

(S. 308). Diese Beschreibung bezieht sich auf den Bau eines normalen *Actinosphaerium*. Von diesen „Chromidien“ wird ferner angegeben, daß sie sich zu Pigmentkörnchen umbilden. „Die aus den Chromidien hervorgehenden stark lichtbrechenden, bräunlichen Pigmentkörnchen sammeln sich gewöhnlich in großen Mengen in der oberflächlichsten protoplasmatischen Lage der Rindenschicht an, bis sie ausgestoßen werden. Auch im Innern des *Actinosphaerium* können Pigmentansammlungen stattfinden; namentlich sind die Nahrungsvacuolen oft bräunlich umrändert, oder es entstehen braune Inseln im Actinosphärienkörper“ (S. 309). — BOISSEVAIN (1909)beobachtet gleichfalls die „Chromidien“ bei *Actinosphaerium*; die Beschreibung ist im allgemeinen ähnlich wie bei HERTWIG.

Noch eine besondere Art von Körnchen beschrieb HERTWIG (1904), die nur in Actinosphärien mit „hypertrophischen“ Kernen auftreten sollen. Diese Tiere haben nach HERTWIG ein schwärzliches Aussehen, welches folgenderweise erklärt wird: „Die Ursache des schwärzlichen Aussehens ist in feinen stark lichtbrechenden Körnchen gegeben. Da dieselben sich in Alkohol und Xylol lösen, sind sie an Canadabalsampräparaten nicht mehr zu finden. Ich deute sie als Fettkörnchen, ob sie aber vom Plasma oder vom Kern aus geliefert werden, lasse ich unentschieden. Für genetische Beziehungen zum Kern spricht ihre Lokalisation im Umkreis der Kerne, z. B. der Riesenkerne, und ihre Anhäufung an Stellen, wo die hypertrophischen Kerne sich zu Haufen vereinigen, woraus sich das marmorierte Aussehen vieler Actinosphärien erklärt“ (S. 341). An einer anderen Stelle bezeichnet HERTWIG diese Körnchen auch als Fetttröpfchen (S. 330).

Unter der meist großen Anzahl der im Actinosphärienplasma vorhandenen körnigen Bestandteile unterscheiden wir drei verschiedene Arten von Körnchen:

I. Größere, etwas stärker lichtbrechende und daher bei tiefer Einstellung dunkle Körnchen, welche hauptsächlich der Marksubstanz eingelagert sind.

II. Sehr kleine Körnchen, welche entlang den Achsenfäden der Pseudopodien, oder in den Wänden der äußersten Vacuolen der Rindenschicht wandern; wir finden diese also überhaupt zum größten Teil auf der Oberfläche des Tieres zerstreut.

III. Die Exkretkörnchen. Dieses sind stark lichtbrechende, kristallinische, bräunliche Körperchen. Sie sind besonders zahlreich in den Vacuolen der Rindenschicht, wo sie wegen ihrer lebhaften Molekularbewegung leicht auffallen.

Ich will nun die soeben aufgestellten drei Arten von körnigen Einschlüssen der Reihe nach genauer charakterisieren.

I. Die größten Körnchen, welche hauptsächlich in der Marksubstanz angehäuft sind. In solchen Fällen, wo die Nahrung an der Oberfläche des *Actinosphaerium* verdaut wird (wie auf Fig. 8), finden sie sich auch in der Rindenschicht. Sie färben sich mit allen Kernfärbemitteln; auf Eisenhämatoxylinpräparaten sehen sie in Farbe und oft auch in der Form genau ebenso aus wie die Binnenkörper der Kerne. Wendet man aber für die Schnitte durch ein *Actinosphaerium*, welches mit Pikrinessigsäure abgetötet und mit Boraxkarmin vorgefärbt war, das FLEMMING'sche Dreifarbenverfahren an (Safranin, Gentianaviolett, Orange, nacheinander; oder man kann auch das Safranin zur Vorfärbung statt des Boraxkarmin anwenden, dann mit Gentianaviolett und Orange die Schnitte nachfärben), so färben sich dabei die Kernbinnenkörper rot bis orange, unsere Körnchen dagegen dunkelviolett. Macht man eine Vitalfärbung mit Neutralrot, so werden die Körnchen sehr deutlich und färben sich rosa bis rot. Sie sind in Wasser, Alkohol und Äther unlöslich, ebensowenig in schwachen Säuren und Alkalien,[1]) lösen sich dagegen in künstlichem Magensaft. Um das nachzuweisen, wurden die Actinosphärien auf einen Objektträger mit wenig Kulturflüssigkeit gebracht, zu welcher künstlicher Magensaft (1000 Teile Wasser, 100 Teile Schweinemagenschleimhaut, 15 Teile Salzsäure) beigemischt wurde, dann wurde ein Deckglas aufgelegt und ringsherum mit Paraffin abgeschlossen. Der Objektträger wurde hierauf in feuchter Atmosphäre bei ungefähr 40° gehalten. Nach 3—4 Stunden waren die Körnchen sämtlich aufgelöst. — Die Kerne des *Actinosphaerium* waren nach dieser Behandlung vollständig eingeschrumpft; es blieben die Binnenkörper intakt und waren von der Kernmembran eng umschlossen; der übrige Kerninhalt war verschwunden. Was die Form der Körnchen anlangt, so sind sie ziemlich unregelmäßig, eckig oval. Ihre Oberfläche färbt sich immer intensiver als die Mitte. Manchmal kann man in ihrer Oberfläche noch dunkle, sehr kleine Körnchen eingelagert sehen (Fig. 8, B).

---

[1]) Die Konzentrationen der angewandten Reagentien sind weiter unten (bei Betrachtung der Exkretkörnchen) angegeben.



Wahrscheinlich sind es diese Körnchen, welche schon KÖLLIKER gesehen, dann SCHULZE als die „größeren, dunkeln, glänzenden“ beschrieben hat. Vielleicht stimmen sie auch überein mit den Körnchen Nr. 1 bei v. PRZESMYCKI. Jedenfalls sind es auch diejenigen, die HERTWIG in der Arbeit von 1899 als ovale Körperchen erwähnt — man kann diese nach ihrer von HERTWIG angegebenen Färbbarkeit mit Neutralrot und mit Gentianaviolett mit Sicherheit identifizieren. Mit den „Chromidien“, wie sie von HERTWIG beschrieben wurden, scheinen diese Körnchen dagegen durchaus nichts Gemeinsames zu haben; denn erstens sagt ja HERTWIG (1904), daß er die „Chromidien“ früher nie beobachtet hat, zweitens haben wir gesehen, daß sich unsere Körnchen nach dem FLEMMING'schen Dreifarbenverfahren ganz anders gefärbt erweisen als die Binnenkörper der Kerne, wogegen von den „Chromidien“ angegeben wird, daß sie „sich genau färben wie die Substanz des Amphinucleolus“. Diese genau gleiche Färbbarkeit der „Chromidien“ und des „Amphinucleolus“ ist aber andererseits das einzige Kriterium für die Erkennung der „Chromidien“, und auch der einzige direkte Beweis für ihre Abstammung von dem Kern; denn HERTWIG gibt selbst an, daß er ein Heraustreten der „Chromidien“ aus dem Kern nicht hat beobachten können.

Wir haben gesehen, daß in allen älteren Arbeiten (KÖLLIKER, SCHULZE und BÜTSCHLI) ein Zusammenhang unserer Körnchen mit der Nahrungsaufnahme angenommen wird. Wir sind auch in der Tat gezwungen, einen solchen Zusammenhang zu behaupten. Die Zahl der Körnchen ist sehr verschieden — je nach der größeren oder geringeren Assimilation; wo viele Nahrungsvacuolen sind, sind auch die Körnchen sehr zahlreich und lagern sich dicht um dieselben herum (Fig. 7); sie werden unzweifelhaft hier gebildet und oft in solchen Massen angehäuft, daß sie große zusammenhängende Schichten bilden, die dann auf dem Durchschnitt wie ein Netz aussehen (Fig. 7 A und Fig. 8 A). Solche Bilder erinnern in gewissem Grade an die Chromidialnetze, wie sie von Süßwasserrhizopoden (*Arcella*, *Difflugia*) beschrieben worden sind (vgl. z. B. ZUELZER 1904).

Auf Fig. 7 sehen wir zwei Nahrungsvacuolen, von denen die größere von einer sehr großen Menge der violetten Körnchen umlagert ist. Nach dem Innern des Protoplasmas nimmt dann ihre Zahl immer mehr und mehr ab. Die dichte Anhäufung bei A, ungefähr zwischen den beiden Vacuolen, erklärt sich dadurch, daß auf dem nächsten Schnitt an dieser Stelle noch eine größere Nahrungsvacuole liegt, von welcher also auf dem abgebildeten

Schnitte nur die obere Wandung getroffen ist. Ebenso ist auch die Anhäufung A der Fig. 8 entstanden. Auf dieser Figur sehen wir sehr deutlich, wie die Wände der Vacuole, welche das halbverdaute. quer geschnittene *Paramaecium* einschließt, vollgepfropft sind von den violetten Körnchen. Diese Vacuole liegt ganz oberflächlich, und es fällt auf, daß die Kerne der Oberfläche mehr genähert sind als gewöhnlich.

II. Die an der Oberfläche des *Actinosphaerium* zerstreuten und an den Pseudopodien entlang wandernden Körnchen, welche wir an zweiter Stelle angeführt haben, sind sehr viel kleiner als die ersten. Am lebenden *Actinosphaerium*, welches mit Neutralrot gefärbt ist, bemerkt man sie am leichtesten, denn sie färben sich intensiver als die der ersten Art und erscheinen dunkelrot (Fig. 11). Sie sind stäbchenförmig, oft zu zweien hintereinander zusammengefügt, so daß sie an ein Bacterienteilungsstadium erinnern. In ihren Bewegungen haben sie auch viel Ähnlichkeit mit Bacterien. Es wurde oft versucht zu beobachten, ob sie sich auch noch weiter bewegen können, wenn man das *Actinosphaerium* durch Anpressen mit dem Deckglase zum Absterben gebracht hat, jedoch immer mit negativem Resultat, die Stäbchen bewegten sich nicht mehr. Wir haben angeführt, daß auch v. Przesmycki seine Körnchen Nr. 2 für Bacterien hielt. Wir würden auch seine Körnchen mit unseren Stäbchen identifizieren, wenn er ihre Form nicht als rundlich angegeben hätte. Die Zahl dieser Stäbchen ist im Verhältnis zu den ersten größeren Körnchen und auch zu den Exkretkörnchen nicht groß. Über ihr Verhalten zu Lösungsmitteln usw. konnte wegen ihrer außerordentlichen Kleinheit nichts ermittelt werden. Von künstlichem Magensaft werden sie wahrscheinlich nicht angegriffen.

III. Die Exkretkörnchen — ihrer Form nach kristallinische Körperchen, Stäbchen, Bündel oder manchmal sehr schön ausgebildete Drusen (Fig. 12) — sind meist in sehr großer Anzahl vorhanden: hauptsächlich in den Vacuolen der Rindenschicht und den der Rinde nächstgelegenen Vacuolen der Markschicht. Sie finden sich hier, sowie in der Vacuolenflüssigkeit in lebhafter Molekularbewegung, jedoch auch in den Wänden der Vacuolen eingelagert in ähnlicher Weise wie die größeren (ersten) Körnchen. Außerdem finden wir die Exkretkörnchen auch in den Pseudopodien, wo sie zusammen mit den unter II. beschriebenen Stäbchen wandern (Fig. 11). Von hier können sie sich auch weiter nach innen in den Wänden der Rindenvacuolen bewegen. Oft sieht man eine streng kugelförmige Vacuole mit lebhaft sich bewegenden Körnchen zwischen anderen

Rindenvacuolen, und kann dann verfolgen, wie sie an den Rand des Tieres geschoben und allmählich ganz ausgestoßen wird (Fig. 2, A). Die Molekularbewegung dauert auch außerhalb des *Actinosphaerium* in derselben Weise fort. Die Vacuole hatte also entweder schon früher ihre eigenen Wandungen gehabt, oder es hat sich in dem Moment, wo sie ausgestoßen wurde, eine Niederschlagsmembran um sie gebildet. Auch nach dem Zerplatzen eines *Actinosphaerium* infolge von Druck sieht man unter den Trümmern immer solche Vacuolen mit tanzenden Körnchen.

Die Exkretkörnchen sind stets bräunlich gefärbt und lassen sich künstlich weder mit Neutralrot, noch mit irgend einem anderen Farbstoffe färben. Sie lösen sich nicht in kaltem Wasser, Äther und Alkohol, dagegen leicht in 10 proz. Essigsäure, in Ammoniak und 35 proz. Kalilauge, wahrscheinlich überhaupt in allen Säuren und Alkalien. Sie erweisen sich also in ihrem Aussehen und chemischen Verhalten ähnlich den Exkretkörnchen von *Paramaecium*, welche von SCHEWIAKOFF (1893) untersucht worden sind. Wie bekannt, ist er zu dem Resultat gekommen, daß die Exkretkristalle des *Paramaecium* aus phosphorsaurem Kalk bestehen. Ich untersuchte daher die Exkretkörnchen auf Kalk und Phosphorsäure. Die Reaktion mit Essigsäure und oxalsaurem Ammonium gab auch ziemlich gute Resultate, weshalb ich glaube, daß tatsächlich in den Exkretkörnern des *Actinosphaerium* Kalk enthalten ist. Dagegen ist mir der Nachweis der Phosphorsäure nie mit genügender Sicherheit gelungen.

Wir haben gesehen, daß die Exkretkörnchen in den Vacuolen des *Actinosphaerium* von BÜTSCHLI (1880—82) zum erstenmal beschrieben worden sind. Dagegen können wir sie gar nicht erkennen in den von v. PRZESMYCKI angeführten Körnchen Nr. 3 („allerfeinste Pünktchen"). Wahrscheinlich sind die Exkretkörnchen identisch mit denen, welche HERTWIG als Pigment bezeichnet. Auf Schnitten findet man sie nur selten, man kann sie einigermaßen erhalten, indem man zur Herstellung der Schnitte bis zuletzt nur neutrale Flüssigkeiten anwendet. Auf Schnitten sehen sie Pigmentkörnern sehr ähnlich. Außerdem gibt HERTWIG für seine Pigmentkörnchen an — bräunliche Färbung, Anhäufung in der Rindenschicht und Ansammlung um Vacuolen. Dieses alles paßt auf die Exkretkörnchen. Wir dürfen also wohl mit ziemlicher Sicherheit HERTWIG's Pigmentkörner mit den Exkretkörnchen identifizieren.

Weitere Aufschlüsse über die Bedeutung der von uns beschriebenen Körnchen wollen wir erst später abzuleiten versuchen, d. h. nach der Betrachtung ihres Verhaltens bei Änderungen der Lebensbedingungen des *Actinosphaerium*.

Über „Degenerationserscheinungen" in Futter- und Hungerkulturen.

Die ersten ausgedehnten Untersuchungen über Erscheinungen in Futterkulturen von Protozoen stammen von MAUPAS (1888). Bekanntlich hat er festgestellt, daß bei Infusorien, welche andauernd in Futterkulturen gezüchtet werden, Degenerationserscheinungen auftreten, infolgedessen die Kulturen aussterben. Durchgeführt wurden diese Versuche an *Stylonychia pustulata*, *St. mytilus*, *Onychodromus grandis*, *Oxytricha* und *Leucophrys patula*. Die Degenerationserscheinungen (dégénérescence sénile) beschreibt MAUPAS folgenderweise: das erste Merkmal ist die Reduktion der Körpergröße. Solche Tiere von geringeren Dimensionen können aber noch durch eine ziemlich große Zahl von Generationen weiterleben und sich vermehren (S. 257). Im weiteren Verlauf wird auch die Gestalt der Infusorien verändert, ihre äußeren Organe können sich zurückbilden und teilweise verschwinden. Gleichzeitig gehen auch Veränderungen im Kernapparat vor sich. Der Macronucleus zerfällt entweder in einzelne Stücke, oder er nimmt eine unregelmäßige Gestalt an, wird vacuolär und körnig, es treten in ihm stark lichtbrechende Granulationen auf (S. 258). Die Zahl der Micronuclei wird vermindert — bei *Stylonychia mytilus* nachträglich wieder vermehrt. Bei *St. pustulata* und *Onychodromus grandis* sollen sie sogar ganz verschwinden (S. 258). Die Nahrungsaufnahme kann sich nicht mehr vollziehen und der Organismus verfällt einer totalen Auflösung (S. 262).

JOUKOWSKY (1898), welcher ähnliche Versuche nach den Methoden von MAUPAS angestellt hat, konnte jedoch dessen Resultate nicht bestätigen. Er hat an *Pleurotricha lanceolata* keine Degenerationserscheinungen beobachtet (S. 10). Auch nicht am Nucleus von *Paramaecium caudatum*: dagegen fand er, daß bei einzelnen Paramäcien die Cilien auf der Oberfläche fast völlig verschwunden waren, was zur Folge hatte, daß die Tiere sich nicht bewegten.

SIMPSON (1901) untersucht *Stylonychia pustulata*, *Paramaecium caudatum* und *P. putrinum*. Er hat ebenso wie JOUKOWSKY keinerlei morphologische Veränderungen dieser Infusorien nach einer 3—4 Monate fortgesetzten Züchtung wahrnehmen können. Dagegen konstatierte er: langsamere Bewegung, Neigung zur Inaktivität und „allgemeine Schwäche", sowie eine Abnahme der Körperdimensionen.

Sehr eingehende Untersuchungen in der uns interessierenden Frage hat CALKINS veröffentlicht (1902—1904), welche an *Paramaecium caudatum* ausgeführt waren. Er hat Paramäcien lange Zeit hindurch (23 Monate) gezüchtet und dabei gefunden, daß bei ihnen Perioden lebhafter Vermehrung mit solchen abwechselten, in welchen die Tiere sich gar nicht vermehrten und teilweise ausstarben = „Depressions"perioden. Die Paramäcien in

Depression zeigten morphologisch keine Veränderung (1902). CALKINS berichtet, daß die Beweise für Depression nicht „in morphologischen Eigenschaften sich äußerten (von der Größenreduktion abgesehen), sondern in physiologischen; der Micronucleus war unabänderlich vorhanden. Physiologische Beweise für die Depression zeigten sich in folgendem: a) Anwachsen der Zahl von pathologischen Teilungen (d. h. Teilungen, welche nicht bis zur vollständigen Trennung der Tochtertiere führten) und Entstehung gröberer Mißbildungen; b) Abnahme der Zahl der Teilungen; c) Tod der Individuen, wenn man bei der ständigen Nährlösung (Heuinfus.) bleibt" [citiert nach der deutschen Zusammenfassung 1902, S. 185]. In seiner späteren Arbeit (1904) beschreibt CALKINS Degenerationserscheinungen, welche von zwei verschiedenen Typen waren. I. Er hat in Depressionsperioden Paramäcien beobachtet, welche gar keine größeren Nahrungskörner und keine Verdauungsvacuolen aufwiesen, trotzdem sie Nahrung aufnahmen, und ihr Endoplasma voll von unverdauten Nahrungsballen war. CALKINS schließt daraus, daß die Verdauungsfunktion der Tiere gestört war. Er gibt an, daß sie genau ebenso aussahen wie die Paramäcien in Hungerkulturen nach der Beschreibung WALLENGREN's (über die Versuche von WALLENGREN mit Hungerkulturen werden wir weiter unten berichten). Die Tiere zeigten eine stark ausgesprochene Abnahme der Körperdimension, Vacuolisation ihres Endoplasmas, wobei das Ectoplasma nicht merklich verändert war; bei einigen Individuen waren die Vacuolen so groß, daß sie die Gestalt der Tiere stark veränderten, bei anderen war der Kern in zwei oder drei Teile zerfallen (S. 443). Also war die Verdauungsfunktion der Paramäcien gestört und sie zeigten deutliche Hungererscheinungen. II. Der andere Typus äußerte sich darin, daß die Größe der Tiere kleiner als normal war, das Endoplasma voll von Körnchen, aber keine Vacuolen mit Ausnahme der contractilen. Im Ectoplasma fehlten die Trichocysten, sonst erschien es normal. Der Macronucleus war deutlich körnig und seine Gestalt unregelmäßig. Der Micronucleus war in die Länge gestreckt und spindelförmig. Diese Tiere lebten noch fünf Generationen hindurch und starben dann beinahe sämtlich aus (S. 444). Also zeigten diese Tiere ganz andere Degenerationserscheinungen wie die ersten.

HERTWIG berichtet (1903) über seine Kulturen von *Dileptus gigas*. Der äußere Verlauf dieser Kulturen war ähnlich dem von CALKINS für *Paramaecium* angegebenen. Es zeigten sich auch Depressionszustände verschiedenen Grades. Im Gegensatz zu den Angaben aller früheren Forscher (MAUPAS, SIMPSON, CALKINS), daß die Infusorien bei fortgesetzter Züchtung kleiner werden, ist bei *Dileptus* nach HERTWIG eine Zunahme der Teilgröße (d. h. der „Größe, bei welcher sich ein herangefüttertes Tier in zwei Individuen teilt") zu beobachten. HERTWIG spricht auch hier von einer Kernhypertrophie — daß also auch der Kern bei fortgesetzter Züchtung wächst; er gibt an, daß die Vielkernigkeit von *Dileptus* „präcise Angaben in dieser Hinsicht unmöglich" macht, und daß er dabei „auf den allgemeinen Eindruck gefärbter Präparate angewiesen war" (S. 82). Die Annahme eines Kernwachstums stützt sich also hauptsächlich nur auf die beobachtete Zunahme der Teilgrößen. Das Wachstum des Kernes soll dadurch geschehen, daß dem Protoplasma Chromatin entnommen wird (S. 81).

Besonders stark war die Zunahme der Teilgrößen bei Dilepten ausgeprägt, welche bei niederer Temperatur (8°) gezüchtet wurden. Hertwig konnte noch beobachten, „daß Dilepten, welche in der Wärme (25°) nicht mehr assimilierten, sich also in Depression befanden, bei der Übertragung in Zimmertemperatur die Fähigkeit dazu wieder gewannen" (S. 88). Calkins hat im Gegenteil durch plötzliche Erhöhung der Temperatur die gleiche Wirkung erzielt (1901).

Woodruff (1905) hat die Experimente von Calkins an einigen Hypotrichen nachgeprüft, nämlich an *Oxytricha fallax, Pleurotricha lanceolata* und *Gastrostyla steinii*. Er findet auch denselben „cyklischen" Verlauf der Kulturen, wie Calkins bei *Paramaecium* und Hertwig bei *Dileptus*. Seine Kulturen zeigten ebenfalls abwechselnd Perioden von stärkerer und schwächerer Teilungsfähigkeit. Die Degenerationserscheinungen, welche Woodruff beobachtet hat, sind physiologische: Abnahme der Zahl der Teilungen und verhältnismäßig häufigeres Auftreten von pathologischen Teilungen, und morphologische, welche sich verschieden bei den einzelnen untersuchten Gattungen äußerten: bei *Oxytricha fallax* in Zunahme der Vacuolisation des Protoplasmas, Rückbildung von Cilien, Verdrehung (distorsion) und Zerstückelung des Macronucleus; einer der beiden Micronuclei war zuerst im Laufe einiger Generationen verschwunden, später stieg die Zahl der Micronuclei über die normale; *Pleurotricha* zeigte von „Degeneration" nur vacuolisiertes Plasma, und *Gastrostyla* — vacuolisiertes Plasma und „distorsion" des Macronucleus (S. 612). Ein absolutes Fehlen der Micronuclei, wie Maupas es beschrieben, hat Woodruff nicht beobachtet. Was die Teilgröße der Tiere anbelangt, so zeigte diese bei *Oxytricha* verschiedene Schwankungen. Zuerst war eine Zunahme (resp. Abnahme) der Teilungsgröße parallel mit der Abnahme (resp. Zunahme) der Zahl der Teilungen wahrzunehmen, später (in den letzten Tagen vor dem Aussterben der Kulturen) eine schnelle Abnahme der Teilgröße. Durchaus bestätigt Woodruff die Beobachtung von Calkins, daß während der Depressionsperioden nicht die Fähigkeit der Infusorien Nahrung aufzunehmen gestört war, sondern die verdauenden Funktionen.

Popoff (1907) untersucht *Stylonychia mytilus* (er hat dieses Infusor 3½ Monate lang gezüchtet, gefüttert mit *Colpidium*) und *Paramaecium caudatum*. Die Stylonychiakulturen zeigen auch den schon oft beschriebenen Wechsel von Perioden starker Vermehrung mit Depressionsperioden. Stylonychien in Depression waren deutlich degeneriert. Ihre Körpergröße hatte beträchtlich abgenommen. Die Macronuclei waren stark vergrößert, hatten eine unregelmäßige Gestalt, „sie zeigten Ausbuchtungen und tiefe Einschnürungen". Im Innern des Kernes treten Vacuolen auf; — Popoff schreibt hierüber: „Diese Vacuolen sind klein, ihre Zahl" — „gewöhnlich im Verhältnis der Kerngröße nicht bedeutend, so daß die Kernvergrößerung nicht allein eine Folge der Vacuolisierung des Kernes ist, sondern vielmehr auf einer übermäßigen Anhäufung von Chromatinsubstanz beruht. Für den letzteren Fall spricht auch der Umstand, daß der Kern jetzt genau so tief färbbar ist wie zuvor" (S. 54). Später tritt Zerstückelung der Kerne in kleinere Bruchstücke ein. Die Zahl der Micronuclei ist vermehrt. Im Plasma waren keine Nahrungsvacuolen vorhanden. Popoff's Beobachtungen am *Paramaecium* waren mehr zufälliger

Art. Er fand in einem Kulturglase (einer Stentorkultur) Paramäcien, „deren Bewegungen träge wurden“ (S. 56). Diese Tiere hat er untersucht und gefunden, daß ihre Kerne enorm vergrößert waren, unregelmäßige Form hatten, und daß sich vom Kerne Teile lostrennten. Diese Befunde an Paramäcien (über deren Vorgeschichte nichts bekannt war) lassen sich nicht in Einklang bringen mit den sorgfältigen Untersuchungen von CALKINS und müssen wohl diesen gegenüber als weniger verwertbar angesehen werden.

Versuchen wir die Resultate der bis jetzt besprochenen Untersuchungen an Infusorien zusammenzufassen.[1]) Als erstes wäre der „cyclische Verlauf“ der Kulturen anzuführen, welcher, wie wir gesehen haben, von vielen Seiten bei den verschiedenen Objekten festgestellt worden ist. Nach einer Periode, während welcher die Infusorien sich lebhaft vermehren, nimmt ihre Teilungsfähigkeit ab — sie treten in Depressionsstadien ein. Über das Verhalten der Größe der Tiere in diesen Stadien gehen die Angaben sehr auseinander. Nach MAUPAS würde als Regel eine Abnahme der Körperdimensionen bei längerer Züchtung zu gelten haben, was schon lange vor MAUPAS von BÜTSCHLI (1876) bei dem Studium der Conjugationserscheinungen der Infusorien beobachtet worden war (vgl. S. 209). Dieses wird auch für *Paramaecium caudatum* von SIMPSON und CALKINS (von ersterem auch für *P. putrinum* und *Stylonychia pustulata*), für *St. mytilus* von POPOFF bestätigt. Dagegen wird für *Dileptus gigas* von HERTWIG ein genau entgegengesetztes Verhalten angegeben. Interessant ist das Verhalten von *Oxytricha fallax* (WOODRUFF), welches Infusor in den Depressionsstadien übernormal groß wird, dagegen in Vermehrungsperioden tief unter der normalen Größe bleibt. Interessant ist auch, daß also in ein und derselben Gruppe (den Hypotrichen) so extreme Gegensätze in dieser Hinsicht vorkommen wie bei *Stylonychia* und *Oxytricha*. Was den Kern betrifft, so wird ein Zerfall desselben in mehrere Bruchstücke, Vacuolisierung, unregelmäßige Gestalt in ziemlich übereinstimmender Weise angegeben. Nur bei *Stylonychia mytilus* wäre nach POPOFF eine Vergrößerung des Kernes bemerkbar, und HERTWIG kommt auf indirektem Wege auch für *Dileptus* zu diesem Schlusse. Die Micronuclei scheinen in der Regel eine Vermehrung (manchmal nach vorausgegangener Verminderung) zu erfahren.

Wir wollen jetzt im Zusammenhang über die Versuche HERTWIG's an *Actinosphaerium* berichten. Die Degenerationserscheinungen hat HERTWIG in verschiedenen Abhandlungen berührt (1899 b, 1900, 1902) und in einer ausführlichen Arbeit (1904) behandelt. Die an Infusorien festgestellte „cyclische“ Vermehrung findet auch bei *Actinosphaerium* statt. Wir konnten im Kapitel über unser Material diese Angabe bestätigen. HERTWIG beobachtet bei Tieren aus Futterkulturen ein Kernwachstum, welches sich in dreierlei Weise äußern kann: 1. in einer Vergrößerung der Einzelkerne, 2. in einer

[1]) Alles, was die Conjugation betrifft, habe ich beiseite gelassen, da ich ja nur die Degenerationserscheinungen betrachten wollte.

Vermehrung der Kernzahl, 3. in einer Vermehrung und Vergrößerung der Kerne zugleich (1904, S. 337). Die Vergrößerung der einzelnen Kerne soll auf das 3—4000fache gehen. Unter den Riesenkernen werden unterschieden „chromatische“ und „nucleolare“. Erstere sollen aufgelöst werden, wobei ihr Chromatin sich zu „Chromidien“ umbildet. Die „nucleolaren Riesenkerne“ sollen meistens im ganzen aus dem *Actinosphaerium* ausgestoßen werden. Beweise für die Auflösung der „chromatischen“ Riesenkerne findet Hertwig in Bildern, wo eine Kernmembran nicht nachweisbar ist, manche Kerne weniger Chromatinbrocken enthalten als andere, und im Protoplasma „Chromidien“ zu finden sind, d. h. Körnchen, die sich gleich den Kernbinnenkörpern färben. Die „nucleolaren“ Riesenkerne können, wenn auch selten, gleichfalls aufgelöst werden. Über die zweite Form des Kernwachstums sagt Hertwig weiter: „beachtenswert bei der Kultur mit vermehrter Kernzahl war die geringe Größe der Kerne, durch welche vielleicht das Anwachsen der Kernsubstanz ganz oder wenigstens zum Teil wieder ausgeglichen wurde.“ (S. 340). Diese zweite Form des Kernwachstums wurde von Hertwig viel seltener beobachtet, als die erste. Der dritte Modus des Kernwachstums besteht darin, daß erst die Kernzahl bedeutend vermehrt wird und dann die einzelnen Kerne sich unnormal vergrößern. Dabei erreichen sie aber nicht die Größe der zuerst beschriebenen Riesenkerne; ihrer Struktur nach unterscheiden sie sich auch von diesen, indem ihr Kernreticulum grobmaschiger, das Chromatin nicht wie bei den Riesenkernen in Rosettenform verteilt, sondern in wenigen Binnenkörpern konzentriert ist; auch haben diese Kerne eine deutliche Membran. Diese „hypertrophischen“ Kerne sollen sich auch wieder in normale rückverwandeln können. Daß im Protoplasma solcher durch „hypertrophische“ Kerne ausgezeichneten Tiere auch eigentümliche Körnchen (= Fettkörnchen, Fetttröpfchen) auftreten sollen, hatten wir schon bei einer früheren Gelegenheit erwähnt. Was das Schicksal dieser letzteren Tiere anbelangt, so zeigt sich an ihnen eine „merkwürdige Erscheinung“ (nach Hertwig's eigener Bezeichnung), nämlich die Actinosphärien platzen auf und entleeren fast ihre ganze Marksubstanz samt den Kernen nach außen, indem sie zugrunde gehen! Wir hätten nach Hertwig also auch bei *Actinosphaerium* den Fall einer Zunahme der Kerngröße bei fortgesetzter Züchtung (wie bei *Dileptus* und *Stylonychia mytilus* — alle anderen untersuchten Infusorien zeigen diese Zunahme nicht).

In meinen Kulturen von *Actinosphaerium* habe ich nie Fälle von unnormaler Kernvergrößerung beobachtet, auch keine Bilder, welche

auf Kernzerfall deuten könnten. Alle stark gefütterten Actinosphärien hatten eine vermehrte Kernzahl, entsprachen also der zweiten Form HERTWIG's. Diese Tiere hatten ein undurchsichtiges und dunkleres Aussehen als die gewöhnlichen, frisch eingefangenen („normalen") Exemplare. Dieses Aussehen erklärte sich teilweise durch die vielen Nahrungsvacuolen mit eingeschlossener Nahrung, hauptsächlich wohl aber durch die Aufspeicherung einer sehr großen Anzahl der von mir unter I. beschriebenen Körnchen, wie ich es für dieselben schon oben erwähnt habe. Die Kernzahl war enorm vergrößert, der Durchmesser der Kerne dagegen durchschnittlich kleiner als bei den normalen Tieren (11—14 μ gegen den normalen 13—18 μ). Ob nun durch die Verringerung des Kerndurchmessers das Anwachsen der Kernzahl kompensiert wird, wie HERTWIG es in dem entsprechenden Falle annimmt, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Überhaupt ist ja bei dem vielkernigen Actinosphärium, wie es auch HERTWIG an verschiedenen Stellen (vgl. z. B. 1903) hervorhebt, ein Urteil über eine Zu- oder Abnahme des gesamten Kernvolumens durchaus unmöglich.

Alle diese bei längerer Züchtung auftretenden Erscheinungen hatten von MAUPAS die Bezeichnung als Degenerationserscheinungen erhalten. Er führt die eintretenden physiologischen und morphologischen Veränderungen auf eine Degeneration (dégénérescence sénile), also gewissermaßen auf ein Altwerden, eine Abnutzung des Protoplasma zurück. Auch HERTWIG spricht von einer „physiologischen Degeneration". Er erklärt diesen Vorgang in der Weise, daß „durch die übermäßige in der Natur in solcher Ausdauer wohl schwerlich vorkommende Fütterung und durch das Ausbleiben der Befruchtung eine Überanstrengung der Zelltätigkeit eingeleitet worden sei" (1900, S. 91). Das Wesentliche in der „physiologischen Degeneration" soll nach HERTWIG eine Verschiebung der normalen Relation von Kern und Protoplasma (zu Ungunsten des Protoplasma) sein. Eine andere mögliche Erklärung der betreffenden Erscheinungen, diejenige nämlich, daß sie durch das Auftreten eines pathogenen Organismus veranlaßt sein könnten, sucht HERTWIG durch verschiedene Versuche zu beseitigen. Aber man könnte eine dritte Annahme machen, welche die Tatsachen noch einfacher erklären würde. Die uns interessierenden Erscheinungen („Degenerationserscheinungen") könnten ja auch verursacht sein durch eine allmähliche Vergiftung durch im Organismus sich anhäufende Stoffwechselprodukte. Eine derartige Vergiftung könnte bei der gewöhnlichen Fütterungsweise der gezüchteten Tiere immer mit der gleichen Nah-

rung (der Actinosphärien und Dilepten bei Hertwig mit *Stentor coeruleus*, der Infusorien bei Maupas mit *Cryptochilum nigricans*. oder mit Mehl, der Stylonychien bei Popoff mit Colpidium usw.) als sehr wahrscheinlich bezeichnet werden. Diese Annahme müßte man auch widerlegen, bevor man die Berechtigung hätte, von einer „physiologischen Degeneration" zu sprechen. Eine solche Erklärung ist aber keineswegs widerlegt, man könnte im Gegenteil zur Stütze derselben verschiedene Erfahrungen heranziehen, welche in den Experimenten von Calkins und Woodruff gewonnen wurden. Die Resultate dieser Experimente würden dadurch auch viel einfacher erklärt sein, als wie es Calkins selbst getan hat. Mehrmals hat Calkins (sogar wiederholt bei ein und derselben Kultur) bei seinen Paramäcien und ganz ebenso Woodruff bei den Hypotrichen, wenn diese in so starke Depression geraten waren, daß ein Aussterben der Kultur zu befürchten war, durch plötzliche Veränderung des Nahrungsmittels die Kultur vor dem Untergang gerettet. Bei der Annahme, daß die Depression wesentlich auf einer Vergiftung durch gewisse Stoffwechselprodukte beruht, ist es leicht verständlich, daß eine Veränderung der Nahrung, oder auch ein bloßes Einwirken durch chemische Mittel, die Vergiftung und die Depression wieder rückgängig machen kann. Calkins hat für diese Erfahrungen folgende Erklärung gegeben. Er beobachtete, daß die Paramäcien nach Veränderung der Nahrung sich wieder zu vermehren beginnen oder, wie er sich ausdrückt, künstlich verjüngt sind. Er vergleicht nun diese erneute Vermehrung der Infusorien mit einer solchen, wie sie nach Conjugationsepidemien auftritt; durch weitgehende Durchführung dieses Vergleiches kommt er zu dem Gedanken, der Einfluß der veränderten Nahrung (der chemische Reiz) auf das in Depression befindliche *Paramaecium* sei ähnlich der Einwirkung gewisser chemischer Reize auf das tierische Ei bei der sog. künstlichen Parthenogenese. Es war meine Absicht entsprechende Versuche (mit Veränderung der Nahrung) auch an Actinosphärien auszuführen. Dieses ist aber für solche Versuche kein passendes Objekt; denn während bei den Infusorien eine Abnahme oder Erneuerung der Lebenstätigkeit sich sofort an ihrer Vermehrung kennzeichnet, ist bei *Actinosphaerium* der Moment der Kernteilung sehr schwer abzupassen. Das Zählen der Exemplare würde hier gar nichts ergeben, da eine erneute Kernteilung und Wiederaufnahme von Nahrung bei *Actinosphaerium* nicht durchaus eine Vermehrung der Zahl der Tiere zur Folge hat, sondern oft nur ein Wachstum der einzelnen (verschieden großen) Individuen.

Die Hungererscheinungen bei Protozoen sind in folgenden Arbeiten behandelt worden: bei *Paramaecium* von KASANZEV (1901), WALLENGREN (1901) und KHAINSKI (1906); bei *Actinosphaerium* und *Dileptus* in verschiedenen Arbeiten HERTWIG's.

Außer diesen speziellen Arbeiten finden wir noch einzelne mehr gelegentliche Angaben: die ältesten bei BRASS (1883). Er beobachtete, daß Amöben, die er in einer Kultur hielt, zu welcher er keine neue Nahrung hinzufügte, „in die Ruhestadien übergingen" (S. 68). Für Infusorien gibt er an, daß beim Hungern das Chromatin der Kerne verbraucht wird: „Läßt man nämlich nun die Infusorien hungern, so gewahrt man, daß diese chromatische Substanz nach und nach wieder verschwindet, das heißt, sie wird gelöst und dient zur Unterhaltung der allgemeinen Körperfunktionen oder auch nur zur Unterhaltung der Kernfunktionen." Diesen Resultaten ist kein großer Wert zuzuerkennen, da die Methode der Versuche zu unvollkommen ist.

Andere kurze Angaben verschiedener Autoren über Hungererscheinungen hat WALLENGREN in einem Kapitel seiner Arbeit zusammengestellt. Ich will diese kurzen, wie gesagt, mehr gelegentlichen Beobachtungen, die ohne strenge Versuchsmethode ausgeführt wurden, nicht noch einmal aufzählen. Es wäre dann noch anzuführen eine Bemerkung über *Paramaecium* von HERTWIG (1899 b) (ebenfalls ohne Angabe über die Methode der Versuche): „Ebenso ergibt die Untersuchung hungernder Tiere auffallend große Kerne inmitten eines dünnen Überzugs von Protoplasma" (S. 68).

SOSNOWSKI (1899) berichtet kurz über Hungerversuche, welche er mit *Stentor coeruleus* ausgeführt hat. Die Stentoren wurden einzeln aus den Kulturschalen herausgenommen, mehrere Male in filtriertem Wasser abgespült und dann in kleinen mit Watte verschlossenen Gläschen einzeln gehalten. Die Infusorien teilten sich in der Hungerkultur gewöhnlich noch zwei oder dreimal, nahmen dann oft eine unregelmäßige („monstruöse") Gestalt an und starben ab. Der Macronucleus hatte nach der zweiten oder dritten Teilung ebenfalls eine unregelmäßige Form; „neben sehr großen Segmenten treten sehr kleine auf" (S. 31) und war stark vacuolisiert.

KASANZEV (1901) beobachtet folgenden Verlauf der Hungererscheinungen bei *Paramaecium caudatum*. Als erstes Resultat tritt das Loslösen des Kleinkerns vom Großkerne ein. Nach dem Fortrücken macht der Micronucleus verschiedene Veränderungen durch. Zwei verschiedene Teile werden in ihm unterscheidbar: ein chromatischer mit deutlicher Längsstreifung und ein achromatischer. Der Umfang des Micronucleus wird mehr als um das Doppelte vergrößert, durch Eindringen von Flüssigkeit unter seine Membran; letztere wird dadurch von dem chromatischen Teil stark abgehoben. Auf Kosten dieser aus dem Protoplasma eingedrungenen Flüssigkeit wird der achromatische Teil des Micronucleus enorm vergrößert. Das Chromatinnetz liegt dem vergrößerten achromatischen Teile oberflächlich an. Diese Zustände werden als Vorbereitung zur nachfolgenden Teilung, also als Übergänge zum Spindelstadium aufgefaßt. Nun vollzieht sich die Teilung des Micronucleus bis zu Ende, oder es kann die schon ausgebildete Kernspindel „eine rückläufige Metamorphose" durchmachen.

Es können auch noch „die in Spindelstadien sich befindenden Tochterkerne wieder verschmelzen. Kommt die Teilung zustande, so finden sich zwei verschieden gestaltete Tochterkleinkerne: der eine kleiner mit homogenem Chromatin, der andere viel größer, mit einem Chromatinnetz, welches „deutliche Knotenverdickungen“ aufweist. Über das Protoplasma des hungernden *Paramaecium* gibt Kasanzev nur an, daß es durchsichtiger wird, an Menge abnimmt, was sich in Vacuolisierung und Abnahme der Körperdimensionen zeigt. Die Vacuolisierung geht so weit, daß nur „spärliche Brücken“ des Endoplasma zwischen einem Wandbeleg übrig bleiben. Der Macronucleus wird sehr vergrößert, dabei verändert er seine Form und nimmt „eine verlängerte bis geradezu stabförmige Gestalt“ an. Durch seine Vergrößerung wird die äußere Gestalt des *Paramaecium* beeinflußt: „sie zeigt Anschwellungen in der Gegend, wo der Macronucleus liegt“. „Der Großkern wächst auf Kosten des Protoplasma.“ Kasanzev sucht die Vergrößerung des Macronucleus in der Weise zu erklären, daß während des Hungers der Kern keine Stoffe an das Protoplasma abzugeben braucht, welche sonst bei der Verdauung von ihm geliefert werden. Die Struktur des Macronucleus wird grobkörniger, seine Chromatinmasse nimmt zu und sammelt sich zu groben Körnern und „nucleolusartigen“ kleinen Klümpchen an. Dabei ist das Chromatin aber „in der Regel ziemlich gleichmäßig im Großkern verteilt“. Nachdem der Macronucleus „gewaltige Dimensionen“ erreicht hat, wird seine Masse reduziert. (Es ist mir ganz unverständlich, wie man in diesen und ähnlichen Fällen von Veränderungen der „Masse“ des Kernes (oder auch vom Massenverhältnis) sprechen kann, wie es verschiedene Autoren tun (Hertwig, Popoff, Kasanzev). Was wir beobachten können, ist doch nur die Volumenänderung. Wie aber z. B. bei einer Größenzunahme des Kernes seine „Masse“ sich verändert, das können wir nicht mit Sicherheit erschließen. Auch das Verhalten gegenüber Färbungen ist in diesem Falle nicht beweisend. Die Reduktion geschieht, indem „Klumpen von gelblicher Substanz“ in das Protoplasma ausgestoßen werden. Diese Substanz soll aus dem Chromatin stammen. Außerdem werden auch noch andere gelbe Körner aus dem Kerne ausgestoßen, welche achromatischen Ursprungs sein sollen. Der Macronucleus zerfällt immer in vier Bruchstücke, in jedem derselben liegt inmitten eines achromatischen Teiles eine „nucleolusartige Chromatinverdichtung“.

An der Methode, die Kasanzev zur Herstellung seiner Hungerkulturen angewandt hat, ist verschiedenes auszusetzen, wie das auch schon von Khainski (1906) geschehen ist. Kasanzev hat die Paramäcien aus den Futterkulturen mit einer Pipette in die für Hungerkulturen bestimmten breiten Cylinder übergeführt und dabei „darauf geachtet, möglichst wenig des von Bakterien wimmelnden Wassers mitzunehmen“. Dann wurde einfach Leitungswasser dazugegossen. Die Tiere wurden also nicht zuerst abgespült; wie die Glascylinder zugedeckt wurden und ob das Wasser gewechselt wurde, ist nicht angegeben. Bei dieser Methode mußten jedenfalls große Mengen von Bakterien in die „Hungerkulturen“ hereingelangen und konnten sich vielleicht auch noch darin vermehren. Reine Hungererscheinungen sind unter solchen Bedingungen wohl schwer zu erwarten.

Bei WALLENGREN (in demselben Jahre wie KASANZEV — 1901) finden wir in vielen Punkten ganz abweichende Resultate. WALLENGREN hat eine viel sorgfältigere Methode angewandt als KASANZEV. Die Infusorien wurden 5—6 mal in reinem Wasser gewaschen und dann in Glasröhrchen gebracht, welche mit reiner Watte verschlossen wurden. Er beschreibt folgende Hungererscheinungen: Während der ersten Hungerperiode verschwinden aus dem Endoplasma die Nahrungsvacuolen und Nahrungsballen, hierauf die hier eingelagerten Reservekörnchen, welche sich durch Neutralrot färben lassen. Dann wird auch das Endoplasma selbst angegriffen. Die Körperdimensionen des hungernden *Paramaecium* werden kleiner. Ectoplasma, Trichocysten, Cilien werden aber noch gar nicht verändert. Später (II. Hungerperiode) treten in dem Endoplasma Flüssigkeitsvacuolen auf und es erscheint stark vacuolisiert. Diese Bilder, wie sie WALLENGREN von den hungernden Paramäcien gibt, stimmen ganz auffallend überein mit denjenigen, wie sie die halbverdauten Paramäcien in den Nahrungsvacuolen unserer Actinosphärien zeigen. Ein solches außen liegendes halbverdautes Tier ist auf unserer Fig. 8 abgebildet.[1]) Wir sehen auch hier, daß das Endoplasma stark vacuolisiert, ja beinahe verschwunden ist, während das Ectoplasma und die Trichocysten ganz normal aussehen — sie erweisen sich also auch den verdauenden Fermenten des *Actinosphaerium* gegenüber als resistenter.) In der II. Hungerperiode wird auch das Ectoplasma angegriffen, wahrscheinlich werden auch die Trichocysten und teilweise die Cilien resorbiert. Es verschwinden jetzt auch noch die eigentümlichen Körnchen, welche sich in der I. Periode neu gebildet hatten. Die Veränderungen, die der Macronucleus in der I. Hungerperiode durchmacht, sind folgende: in demselben entstehen kleine chromatophile Körnchen, verschmelzen miteinander zu größeren Körperchen, sammeln sich in der Mitte des Kernes, verschmelzen hier weiter und bilden so „einen großen, einheitlichen, maulbeerähnlichen Kernkörper". Dabei verändert der Macronucleus auch seine Form, er wird bedeutend länger und schmäler als bei den normalen Tieren. Dieser Vorgang ist aber **nur** eine Formveränderung, das Volumen hat sich nicht verändert. Das sind also schon zwei ganz schroffe Gegensätze zu der Beschreibung KASANZEV's, welcher angibt, daß die chromatischen Körner gleichmäßig im Kernraum verteilt sind und daß der Macronucleus enorm wächst (nicht nur relativ zur Körpergröße, sondern auch absolut). In der II. Hungerperiode wird nun nach WALLENGREN der Macronucleus allmählich deformiert und zerdrückt, die kleinen Bruchstücke werden als Nährmaterial verbraucht. Der einzige Teil des Macronucleus, der bis zu Ende sich erhält, ist der oben erwähnte Kernkörper, er wird nur mehr rund und verändert ein wenig seine Struktur. Wieder finden wir also, daß während nach KASANZEV das Chromatin aus dem Kern ausgestoßen und im Protoplasma aufgelöst wird, nach WALLENGREN gerade der aus chromatischen Elementen entstandene Kernkörper den am meisten resistenten Teil des Kerns bildet. Die größten Widersprüche in den Resultaten der beiden Autoren beziehen sich aber auf das Verhalten des Micronucleus. Wir haben ge-

[1]) Die Paramäcien müßten im Verhältnis zum *Actinosphaerium* doppelt so groß gezeichnet sein, als wie es auf unserer Figur ausgeführt ist.

sehen, daß Kasanzev als erstes Resultat des Hungers ein Loslösen des Micronucleus vom Macronucleus anführt — Wallengren dagegen gibt an, daß während der ganzen ersten Hungerperiode der Micronucleus an seiner Stelle (in der Einbuchtung des Ma. n.) liegen bleibt und erst am Ende dieser Periode allmählich heraustritt. Kasanzev beschreibt, daß der Micronucleus sich im Verlauf der Hungerperiode teilt; Wallengren sagt hierüber folgendes: wir finden, „daß sowohl seine Lage und Formveränderungen als die Veränderungen in seinem Bau mit denjenigen Veränderungen ganz übereinstimmen, welche er unter normalen Verhältnissen bei einer bevorstehenden Teilung eingeht. Dennoch kommt es gewöhnlich nicht zu einer wirklichen Teilung.“ Nach Wallengren treten in dem Micronucleus überhaupt gar keine tiefgreifenden Veränderungen auf, keine Zustände, welche nicht auch im normalen Lebenslauf vorkommen.

Dasselbe Thema — die Hungererscheinungen bei *Paramaecium* — wird auch in der Arbeit von Khainski (1906) behandelt. Er gibt auch an, daß das Endoplasma heller und durchsichtiger wird, daß Nahrungskörper und Vacuolen verschwinden, ebenso die mit Neutralrot färbbaren Reservekörnchen. Die Neubildung und Resorption von eigentümlichen fettähnlichen Körperchen, die Wallengren beschreibt, hat Khainski nicht beobachtet. Auch verschwinden nach Khainski die Trichocysten noch bevor das eigentliche Ectoplasma verändert wird. Im Gegensatz zu den beiden ersten Autoren, welche eine Längsstreckung des Macronucleus im Verlauf der Hungerkulturen beschreiben, wird nach Khainski in der ersten Hungerperiode der Kern kugelrund. Er meint, daß diese Form des Macronucleus sich aus den mechanischen Bedingungen bei der physiologischen Ruhe desselben erklären läßt. Er beobachtet eine Vergrößerung des Macronucleus im Verlaufe der Versuche, aber dieser Prozeß soll in ganz anderer Weise zustande kommen, als es Kasanzev angibt. Während letzterer sich vorstellt, daß der Kern durch Neubildung von Chromatin auf Kosten des Protoplasma wächst, kommt Khainski zu dem Schlusse, daß der Kern vergrößert wird durch den Druck des sich anhäufenden Kernsaftes, welcher sich aus Produkten des Chromatinzerfalls bilden soll. Ausstoßung von Kernbestandteilen findet nicht statt. Der Kern nimmt bis zuletzt an Volumen zu. Konzentrierung des Chromatin zu Kernkörpern (Wallengren) hat Khainski nicht beobachtet; er gibt aber auch an, daß die Chromatinkörner im Kernraume ungleichmäßig verteilt sind, und zwar soll das Chromatin hauptsächlich in einer der Oberfläche anliegenden Schicht angeordnet sein. Durch die Abrundung des Kernes wird der Micronucleus aus seiner Lage mechanisch herausgestoßen und von dem Macronucleus entfernt. Der Bau des Micronucleus wurde wenig verändert; solch' weitgehende Umbildungen, wie Kasanzev sie beschreibt, hat auch Khainski nicht bestätigen können. Im weiteren Verlauf der Hungerperiode wird der Macronucleus deformiert und zerfällt zuletzt durch Aufplatzen in mehrere Teilstücke, welche weiter zerplatzen und sich auflösen können. Diese Bruchstücke sind alle gleichwertig. d. h. nicht die einen leichter auflösbar als die anderen (Gegensatz zu Wallengren).

Die Methode, nach welcher die Hungerkulturen von Khainski hergestellt wurden, ist ungefähr dieselbe wie bei Wallengren, und in allen

Einzelheiten zum Erhalten möglichst reiner Versuchsbedingungen vervollkommnet.

Wir kommen zu dem Schlusse, daß sichere Resultate in diesem Problem noch nicht gewonnen sind, da die verschiedenen Autoren sich in mehreren der wichtigsten Punkte widersprechen.

In HERTWIG's Mitteilung über Versuche an *Dileptus gigas* (1903) finden wir folgende Angaben über Hungererscheinungen: „Läßt man Dilepten hungern“ . . . „so ist die Regel, daß noch eine Teilung im Hungerzustand eintritt, dann verhungern die Tiere und schwinden dabei zu einer unglaublich geringen Größe. Ist dieselbe erreicht, so kugeln sich die Dilepten zusammen und sterben ab. Die zweite Möglichkeit auf Hunger zu reagieren, ist Übergang zur Conjugation“ (S. 78). „Der dritte Ausgang der Hungerkulturen war Encystierung“ (S. 79).

Wenden wir uns jetzt zu den Untersuchungen HERTWIG's an *Actinosphaerium.* Über Hungerversuche lesen wir (1902): „Wenn man Actinosphärien hungern läßt, so können drei Fälle eintreten. 1. Die Tiere verhungern allmählich; 2. sie encystieren sich, sie umgeben sich mit einer festen Hülle, innerhalb deren die Befruchtung vollzogen wird; 3. sie lösen ihre Kerne auf. Im letzteren Falle verwandeln sich unter Auflösung der Kernmembran die Kernsubstanzen — offenbar ziemlich rasch, da es schwer fällt Umbildungsstadien zu finden — in Chromidien um. Das Tier zieht seine Pseudopodien ein und wird eine Protoplasmakugel, deren Inneres nach allen Richtungen von Chromidien durchsetzt ist“ (S. 65). Weiter unten: „Es kann aber auch vorkommen, daß alle Tiere infolge lange fortgesetzten Hungerns zugrunde gehen, ohne sich zu encystieren“ (S. 68). Auch in seiner späteren Arbeit (1904) beschreibt HERTWIG den Verlauf der Hungerkulturen ganz ebenso. Er bemerkt hier auch, daß Actinosphärien, welche in futterfreiem Wasser kultiviert werden, sich encystieren, und sagt weiter: „Ich hatte gefunden, daß das Experiment nicht glatt gelingt, daß von ganz gleich aussehenden, gleichartig kultivierten, gleich großen Tieren, einige schon bald nach Installation der Hungerkulturen Cysten bilden, andere erst nach mehr oder minder langer Dauer, dritte überhaupt nicht. Das Prozentverhältnis, in dem die verschiedenartigen Individuen einer Kultur zueinander stehen, wechselt nach den Zeiten. Die beiden extremen Fälle sind, daß alle Tiere in den ersten Tagen des Versuches sich encystieren; oder es tritt gar keine Encystierung ein und im Laufe von 3—4 Wochen verhungern sämtliche Individuen“ (S. 310). Ähnliche Angaben finden wir auch an anderen Stellen (S. 332 ff.). Wir wollen nur konstatieren, daß der gewöhnliche Ablauf der Hungerkulturen war — entweder Encystierung oder Ver-

hungern, während die dritte Art des Verlaufes, also „Chromidialauflösung“ sämtlicher Kerne, mehr ausnahmsweise vorkam. Überhaupt bekommen wir den Eindruck, daß solche Tiere von HERTWIG selten gesehen wurden; nur an einer Stelle gibt er an, daß er einmal „eine größere Anzahl“ von ihnen zur Verfügung hatte (S. 312). Von den Tieren, welche in den Hungerkulturen sich nicht encystierten, welche also „allmählich verhungerten“, erfahren wir nichts Näheres darüber, wie dieses Verhungern vor sich ging. Über die Methode, nach welcher HERTWIG die Hungerkulturen erzielte, finden sich keine Angaben, außer den oben erwähnten, daß die Tiere in reinem futterfreien Wasser kultiviert wurden.

HERTWIG und einige andere Autoren betonen oft eine Übereinstimmung im Verlaufe der Futter- und der Hungerkulturen. Untersuchen wir nun, inwiefern die Tatsachen für eine solche Auffassung sprechen. Können wir etwa aus den Versuchen HERTWIG's mit *Actinosphaerium* auf eine solche Übereinstimmung schließen? Zur Begründung einer derartigen Meinung würden wir in diesen Versuchen nur folgendes finden: „gelegentlich“ hat HERTWIG in „seinen stark überfütterten Kulturen ebenfalls Chromidialtiere angetroffen“. Er sagt weiter: „Wir haben hier ein Seitenstück zu der Erscheinung, daß Encystierung der Actinosphärien sowohl durch Hunger wie durch übermäßige Fütterung veranlaßt werden kann, durch Hunger freilich sehr viel leichter als durch Fütterung“ (S. 312). Also „Chromidialtiere“, welche, wie wir gesehen haben, auch in Hungerkulturen bei HERTWIG selten auftraten, kommen gelegentlich auch in Futterkulturen vor; und Encystierung — das gewöhnliche Schicksal der Hungerkulturen — kann auch durch Fütterung erzielt werden. Das allgemeine Verhalten und manche wichtige Erscheinungen sind aber auch nach HERTWIG's Beschreibung total verschieden. Eine für Futterkulturen wichtige Erscheinung ist nach HERTWIG ein „enormes Kernwachstum“, die Hungertiere dagegen unterliegen meist der Encystierung, reduzieren also ihre Kernzahl („bis zu 95 Proz. sämtlicher Kerne“). Wir glauben annehmen zu dürfen, daß man aus den Versuchen mit *Actinosphaerium*, auch nach HERTWIG's Beschreibung, nicht zu der Vorstellung von einer Übereinstimmung der Futter- und der Hungerkulturen gelangen kann. Ebensowenig aus den Erfahrungen an *Dileptus*. Wir haben gesehen, daß HERTWIG für Futterkulturen eine Zunahme der Teilgröße der Tiere angibt und für die Hungertiere ein „Schwinden zu unglaublich geringer Größe“. Wir wollen jetzt aber eine wichtige Beobachtung von CALKINS und WOODRUFF, welche wir schon oben citierten, noch einmal hervorheben. Die genannten Forscher haben festgestellt, daß bei manchen Depressionstieren die Nahrung zwar aufgenommen, aber nicht verdaut werden kann. Ist das der Fall, so ist auch zu erwarten, daß bei solchen Tieren richtige Hungererscheinungen auftreten müssen. CALKINS gibt das, wie wir gesehen haben, für *Paramaecium* auch tatsächlich an. Er beschreibt aber neben diesem einen anderen Typus von „Depressionserscheinungen“, welcher mit den Hungererscheinungen nicht übereinstimmt. Weitere

Vergleiche können wir nicht anstellen, da mit keinen anderen Infusorien parallele Hunger- und Fütterungsexperimente ausgeführt worden sind. Wir kommen also schließlich zu folgender Vorstellung: es kann bei in Futterkulturen gezüchteten Tieren eine Hemmung der Verdauungsfunktionen eintreten (nach unserer früheren Annahme — als Resultat von Vergiftung), infolgedessen diese Tiere Hungererscheinungen aufweisen (dazu wären wahrscheinlich auch die gelegentlichen Befunde HERTWIG's von „Chromidialtieren" und Encystierungen in Futterkulturen zu rechnen). Die Futterkulturen können aber auch andere Resultate ergeben. Von einer Übereinstimmung im Verlaufe der Futter- und der Hungerkulturen kann man im allgemeinen nicht sprechen.

Auch die von uns näher verfolgten Hungererscheinungen bei *Actinosphaerium* geben keinerlei Anhaltspunkte für eine derartige Übereinstimmung.

Wir hatten schon erwähnt, daß die Actinosphärien in unseren Hungerkulturen 14 bis höchstens 18 Tage aushielten. Im Laufe dieser Zeit wurden die Tiere immer kleiner und erreichten zum Schluß eine ganz winzige Größe. Die Rindenschicht war bei solchen Tieren kaum mehr zu unterscheiden. Die Markschicht war stark vacuolär, sie war eigentlich eine große Vacuole, von feinen Protoplasmafäden quer durchzogen (Fig. 10). Alle Körnchen von der ersten Art verschwinden schon viel früher; gewöhnlich findet man schon am 6. bis 8. Hungertage keine Spur mehr von ihnen. Diese Körnchen, welche, wie wir jetzt wissen, bei starker Fütterung in großen Mengen aufgespeichert werden, um während der Hungerperioden wieder verbraucht zu werden, müssen wir als Reservekörnchen bezeichnen, da sie ja eine Art Reservematerial für das *Actinosphaerium* darzustellen scheinen. Wahrscheinlich entsprechen sie den Reservekörnchen bei *Paramaecium*, welche WALLENGREN erwähnt. Auch er gibt an, daß sie im Endoplasma eingelagert sind, sich mit Neutralrot färben und gleich am Anfang der Hungerperiode verschwinden. KHAINSKI (1906) hat vorgeschlagen, diese Körnchen nicht als Reservekörnchen, sondern als „Assimilationskörnchen" zu bezeichnen. Er glaubt, daß sie nicht die Bedeutung von Reservestoffen haben, sondern eine Zwischenstufe in dem aufbauenden Prozeß vorstellen.

Die Excretkörnchen dagegen sind bei den hungernden Tieren in ungefähr derselben Menge enthalten wie bei normalen, so bis zum 12. bis 14. Tage; später nimmt auch ihre Zahl allmählich ab. In der ersten Periode sind sie sogar bei dem hungernden Tier auffallender als beim normalen, was sich wahrscheinlich dadurch erklären läßt, daß die Protoplasmastränge viel schmäler und die Vacuolen größer geworden sind. Wir kommen zu der Vorstellung, daß

diese Körnchen aus Excretstoffen bestehen, welche sowohl bei der Verdauung der Nahrung als auch des Reservematerials wie des Protoplasmas selbst gebildet werden.

Das Verhalten der Kerne bei den hungernden Actinosphärien ist genau entgegengesetzt demjenigen bei stark gefütterten Tieren. Die Kernzahl ist hier ebenso auffallend klein, wie dort vergrößert. Ich habe bei Actinosphärien, die eine längere Hungerperiode hinter sich hatten, nie mehr wie 17—20 Kerne gefunden. Der Durchmesser der Kerne war hier dagegen vielleicht etwas größer als der normale (17—21 μ gegen 13—18 μ). Trotzdem kann es in diesem Falle keinem Zweifel unterliegen, daß das gesamte Kernvolumen bedeutend reduziert ist.

Wie ist nun dieser Prozeß der Kernreduktion vor sich gegangen? Reduktion der Kernzahl kommt bei *Actinosphaerium* auch noch in anderen Fällen vor, so z. B. bei der Encystierung. Für diesen Fall ist eine Erklärung vorgeschlagen worden, wie die Kernreduktion zustande kommen könnte — nämlich durch Kernverschmelzung. So schrieb BÜTSCHLI (1880—82): „Über die Art und Weise, in welcher sich dieser Prozeß (nämlich die Abnahme der Zahl der Kerne im encystierten Plasmakörper; W. B.) vollzieht, ist jedoch bis jetzt nichts Sicheres bekannt. Entweder können hier Kernverschmelzungen stattfinden, was hauptsächlich SCHNEIDER vermutet, und wofür mancherlei Wahrscheinlichkeitsgründe aufgeführt werden könnten (namentlich aber die Beobachtung BRANDT's, daß die Größe der Kerne beträchtlicher wird wie früher ...“ (S. 314)). Auch BRAUER (1894) schließt sich auf Grund seiner Untersuchungen dieser Ansicht an. Er beschreibt folgendes Bild: „In dem ersteren Tiere (einem Tiere, welches die ersten Anfänge von Encystierung zeigte; W. B.), waren nur wenige Kerne zu treffen, welche vereinzelt lagen, die meisten waren in Gruppen zu je zwei, oder zu je vier eng zusammengeordnet. Einige lagen so dicht zusammen, daß die berührenden Flächen sich mehr oder minder stark abgeplattet hatten; bei anderen endlich waren die Scheidewände nicht mehr zu erkennen, nur eine Einkerbung in der Mitte deutete die Zusammensetzung aus zwei Kernen an“ (S. 197). HERTWIG (1899) leugnet die Möglichkeit, daß Kernverschmelzungen in diesem Falle vorkommen können. Er sagt, daß er „niemals Beweise für eine Kernverschmelzung gefunden habe“ (S. 650), und ferner, daß er „keine Zeit und Mühe gescheut habe, um festzustellen, daß die Reduktion der Kernzahl nicht durch Verschmelzung, sondern durch partielle Resorption zustande kommt“ (S. 654). In einer anderen Mitteilung aus demselben Jahre

(1899 [b]) gibt er dagegen an, daß er in einigen Fällen Verschmelzungen von Kernen, wie sie BRAUER beschreibt, beobachtet hat. Er spricht dabei die Ansicht aus, daß die Kernverschmelzung „nichts mit der Encystierung zu tun habe, sondern eine Begleiterscheinung des Hungers sei" (S. 64, 65).

Noch in einem Falle nimmt HERTWIG (1904) das Vorkommen von Kernverschmelzungen an, nämlich bei Besprechung des abnormen Kernwachstums (nach den drei verschiedenen Arten, wie wir es bereits oben citiert haben). Die dritte Art dieses Kernwachstums führt HERTWIG auf Kernverschmelzungen zurück (während er bei der ersten Art diese Möglichkeit leugnet). HERTWIG schreibt hier: „Für die chromatischen und nucleolaren Riesenkerne des vorigen Abschnittes konnte ich mit ziemlicher Sicherheit den Satz vertreten, daß sie ihre Größe dem enormen Wachstum eines einzigen Kernes verdanken. Für die jetzt in Rede stehenden Kerne ist eine derartige Erklärung mindestens zweifelhaft. Sie zeigen eine Tendenz, sich in Reihen aneinander zu lagern. Einige Male fand ich Figuren, welche wie zwei unvollkommen geschiedene, also da Teilung ausgeschlossen ist, in Verschmelzung begriffene Kerne aussahen. Auch die ovale Form vieler Kerne macht Verschmelzung wahrscheinlich. So halte ich es denn für wahrscheinlich, daß der Ausgangspunkt der Vergrößerung eine Verschmelzung zweier Kerne ist, daß dieser Doppelkern dann durch Substanzaufnahme weiter wächst" (S. 330).

Wir haben gesehen, daß HERTWIG Kernverschmelzung für ein Resultat von Hunger hält. Die Kernreduktion bei hungernden Tieren soll aber hauptsächlich durch Zerfall (Auflösung) der Kerne geschehen, die Zerfallsprodukte wären die „Chromidien". Ich habe nie Bilder angetroffen, welche auf einen Kernzerfall hinweisen könnten und, wie schon oben erwähnt, keine körnigen Bestandteile des *Actinosphaerium* gefunden, welche den „Chromidien" HERTWIG's entsprechen könnten. Die Körnchen, deren Natur wir nicht näher aufklären konnten (II.), kommen für diesen Fall ganz sicher nicht in Betracht.

Die einzige Art der Kernreduktion, welche ich tatsächlich beobachtet habe, ist die Kernverschmelzung. Ich habe bei hungernden Actinosphärien mit stark reduzierter Kernzahl Bilder angetroffen, welche ganz genau der BRAUER'schen Darstellung der Kernverschmelzung bei der Encystierung entsprechen. Ich kann auf Grund dieser Bilder behaupten, daß eine Reduktion der Kernzahl bei hungernden Tieren durch Verschmelzung der Kerne durchaus vorkommt. Fig. 9 zeigt ein *Actinosphaerium*, welches 10 Tage gehungert hat. Es enthält drei Kernpaare, welche schon mehr oder weniger miteinander verschmolzen sind. Außer diesen hat es nur noch 14 einzelne

Kerne, von denen einige oval in die Länge ausgezogen sind, so daß man auch sie für aus mehreren verschmolzen halten muß. Auf diese Weise erklärt sich, wahrscheinlich, auch der etwas größere Durchmesser der Kerne bei den Hungertieren.

Über Bau und Teilung der Kerne.

Die Teilung und der Bau der Kerne sind von HERTWIG in verschiedenen Arbeiten für encystierte und normale Actinosphärien eingehend beschrieben worden. BRAUER (1894) untersuchte nur encystierte Actinosphärien. Ich will jetzt nach meinen Schnittpräparaten normaler Tiere den Bau und die Teilung der Kerne schildern.

Die Methoden, welche zur Färbung der Schnitte angewandt wurden, sind einerseits die von HERTWIG angewandte Vorfärbung mit Boraxkarmin und Nachbehandlung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin. Andererseits hat sich die schon bei dem Studium der körnigen Bestandteile des Protoplasma angeführte FLEMMING'sche dreifache Färbung (Safranin, Gentianaviolett, Orange) auch hier sehr gut bewährt. Ein *Actinosphaerium*, in welchem Kernteilungen zu sehen sind, zeigt solche zugleich in den verschiedensten Stadien; in einem solchen Tiere sind aber dann beinahe keine ruhenden Kerne zu finden, sondern die meisten sind auf irgendeinem, wenn auch noch so frühen Teilungsstadium.

Ein ruhender Kern von *Actinosphaerium* zeigt in seinem achromatischen Gerüst verschiedene Einlagerungen, deren Aussehen und Menge sehr wechseln können. Gewöhnlich finden sich drei oder vier größere Binnenkörper und eine große Menge kleinerer Körnchen. Dazwischen gibt es auch verschiedene Übergänge und Abweichungen. Die kleinen Körnchen können zu mehreren zusammentreten und einen größeren Körper bilden. Die Zahl der Binnenkörper kann auch unter drei (1—2, dann meist ziemlich große Körper) oder über vier (5—6 und mehr) betragen. Die großen Binnenkörper haben nach Behandlung mit dem FLEMMING'schen Verfahren eine rote bis orange Färbung, die feinen Körnchen sind dunkelrot oder rotviolett [1]) (Fig. 13 und 14). Sehr viele von den feinen Körnchen sitzen der Oberfläche der Binnenkörper direkt auf, in Häufchen oder einzeln. Betrachtet man die Binnenkörper bei schwächerer Vergrößerung, so sehen manche von ihnen dunkel und bläulich aus, bei starker Ver-

[1]) Das Rotviolett dieser Körnchen ist ganz anders als das Blauviolett (bis Blau) der Reservekörnchen; auch sind sie sehr viel kleiner als diese.



größerung findet man, daß diese Färbung sich durch die aufgelagerten feinen violetten Körnchen erklärt. Im optischen Durchschnitt sind die roten Binnenkörper oft von einem mehr oder weniger zusammenhängenden violetten Körnchensaum umgeben. Die großen Binnenkörper haben ein kompaktes, dabei meist inhomogenes Aussehen; in anderen Fällen sind sie verschiedenartig vacuolisiert (Fig. 15). Ein Zusammenhang zwischen den verschiedenen Bildern des Kerninhalts mit Ernährungszuständen des *Actinosphaerium* ist nicht zu beobachten. Bei stark ausgehungerten Actinosphärien, wie auf Fig. 10, finden wir prinzipiell denselben Bau der Kerne (ebenso auch bei den verschmelzenden Kernen auf Fig. 9). Ich glaube dagegen, daß diese verschiedenen Bilder sich durch mehr oder minder nahe Beziehungen zur Teilung erklären lassen.

Hertwig unterscheidet in den Kernen außer dem „Liningerüst" noch „Nucleolarsubstanz" und „Chromatin" (1904) (früher (1899), bezeichnete er erstere als „Plastinmaterial"). Wir können Hertwig's Beschreibung mit unseren Bildern nicht recht in Einklang bringen, und wollen es offen lassen, auf welche der von uns beschriebenen Kernbestandteile diese Bezeichnungen anzuwenden sind. Hertwig glaubt an einen Zusammenhang der verschiedenen Kernbilder mit dem Ernährungszustand. Er schreibt (1899): „Bei hungernden Tieren sieht man selten den Unterschied zwischen Plastingerüst und Chromatinkörper. Beide vereinigten Substanzen bilden entweder einen rundlichen einheitlichen Körper, oder eine schwach verästelte Figur oder wenige getrennte Körper" (S. 637). „Sehr feine Verteilung des Chromatins im Kernraum ist für Actinosphärien, die reichlich gefüttert werden und in voller Assimilation begriffen sind, charakteristisch" (S. 638). Wenn „sehr feine Verteilung des Chromatins im Kernraum" bedeuten soll, daß in diesen Kernen gar keine größeren Binnenkörper vorkommen, so waren solche Bilder auf unseren Präparaten überhaupt nie zu finden.

Die ersten Andeutungen einer sich vorbereitenden Teilung zeigen sich darin, daß der ganze Kern durchsichtiger wird (Fig. 16). Von dem dichten Kerngerüst, welches ihm gewöhnlich ein dunkles Aussehen verleiht, ist jetzt fast keine Spur zu erkennen (Fig. 17). Es sieht aus, als wäre außer den verschiedenen Binnenkörpern und Körnchen gar nichts mehr vorhanden. Diese Körper konzentrieren sich immer mehr nach einem oder einigen Zentren. Man sieht dann einige (Fig. 17) größere Binnenkörper, oft nur einen (Fig. 18), um welche sich die feinen dunklen Körnchen anhäufen. Durch den Kernraum außerhalb dieser Ansammlungen ziehen einzelne Fäden

aneinandergereihter Körnchen. Dieser Ansammlungsprozeß kann so weit gehen, daß nur wenige solcher Fäden übrig bleiben; ob schließlich alle Körnchen sich zu einem Klumpen zusammenballen, ist fraglich. Hertwig gibt an (1899, S. 638), daß bei stark assimilierenden Tieren, deren Kerne sich lebhaft teilen, ein „kompakter Chromatinkörper als Vorbereitung zur Karyokinese" ausgebildet wird. Ich möchte hervorheben, daß diese Angabe von meiner Auffassung des Vorgangs durchaus verschieden ist — was wir in solchen Kernen sehen, ist ein Agglomerat von verschiedenen Körpern und kein „kompakter Chromatinkörper". Um die Kerne hat sich verdichtetes Protoplasma angesammelt, welches sich später zu den Protoplasmakegeln anordnet, die schon aus den Beschreibungen Hertwig's bekannt sind. Die Kerne haben in diesem Stadium eine Membran, welche auffallend schlaff aussieht; sie hat unregelmäßige, schwach ausgestülpte und eingedrückte Stellen, auch Falten. Das sind keine künstlichen Folgen der Konservierung, denn neben solchen Kernen liegen solche in anderen Stadien, welche eine straffgespannte Membran besitzen. Dieser Zustand der Kernmembran erweckt die Vorstellung, daß Substanzen aus dem Kern ausgetreten sind; vielleicht um sich an der Ausbildung der Protoplasmakegel zu beteiligen, wie es von Hertwig angenommen worden ist.

Die nächsten Stadien, die wir finden, zeigen ein ganz anderes Bild (Fig. 19), ohne eigentlichen Übergang zwischen diesen und den vorher beschriebenen. Der Kern hat eine linsenförmige Gestalt angenommen. Die Membran ist wieder glatt gespannt, das Kerngerüst dicht, feinmaschig, ziemlich dunkel mit in den Knoten eingelagerten Körnchen. Die Binnenkörper haben noch Färbung und Aussehen wie früher: beide Sorten — die größeren orangegefärbten und die kleinen violetten Körnchen sind deutlich wahrzunehmen; aber alle diese Körper sind jetzt in einer äquatorialen Schicht angeordnet. (Dieses Stadium entspricht ungefähr bei Hertwig (1899) der Fig. 4^{b}, Taf. III.) Die Protoplasmakegel sind nun deutlich ausgebildet, sie sind höher geworden. (Im allgemeinen ist ihre Ausbildung im gleichen Stadium nicht immer dieselbe: man findet sehr junge Stadien mit stark ausgebildeten Kegelkappen und umgekehrt). Die Fig. 21 zeigt uns ein weiteres Stadium in der Ausbildung der Äquatorialplatte. (Ein Zwischenstadium ist noch auf Fig. 20 gegeben.) Ihre Bestandteile sind jetzt in ihrer Größe gleichmäßiger geworden, indem große Binnenkörper nicht mehr wahrzunehmen sind; auch ist die Körnchenschicht flacher geworden. Unter der Kernmembran ist an beiden Kernpolen eine schmale Zone dadurch unterscheidbar

geworden, daß sich im Kerngerüst hier keine stark färbbaren Körnchen finden, sie also heller erscheint. Die Zone ist eine Wabenreihe breit. Auf den Schnitten sehen wir also oben und unten je einen schmalen, hellen Streifen. Wir erkennen darin die von HERTWIG beschriebenen „Polplatten". Wir finden diese „Polplatten" aber nur auf diesem Stadium, wie es die Fig. 21 u. 22 zeigen, wo auf letzterer vielleicht schon ein Auseinanderrücken von zwei Körnchenschichten in der Äquatorialplatte beginnt. Schon auf der Fig. 23, auf welcher diese beiden Schichten die Kernpole bereits erreicht haben, findet sich nichts von derartigen „Polplatten". Nach HERTWIG sollen sie noch viel länger zu sehen sein — wahrscheinlich bis zum Schlusse der Kernteilung, denn er gibt an: „Jeder Tochterkern bildet sich aus einer Polplatte, einer Spindelhälfte und einer Seitenplatte, bestehend aus den untereinander verschmelzenden Chromosomen" (1899, S. 639). Auf HERTWIG's Zeichnung Fig. 7, Taf. III sind die Polplatten zu sehen — vielleicht ist das Stadium aber doch etwas jünger als dasjenige unserer Fig. 23. Auf den weiteren Figuren HERTWIG's können wir die „Polplatten" ebensowenig unterscheiden, wie auf unseren. HERTWIG spricht die Vermutung aus, daß diese „Polplatten" „funktionell die Centrosomen vertreten" (S. 644).

Den weiteren Verlauf der Kernteilung können wir jetzt auf der schematischen Fig. 24 verfolgen. Nachdem die getrennten Körnchenschichten die Pole des Kerns erreicht haben, schieben sie sich immer weiter auseinander, die Achse des Kerns wird bedeutend verlängert. Zwischen den beiden Schichten, welche von der Form eines flachen Schälchens zu einer mehr nierenförmigen übergegangen sind, spannt sich noch das Kernnetz aus (mit eingelagerten dunklen Körnchen), bis es sich zuletzt durchschnürt. Die Durchschnürung kann auf verschiedenen Stadien der Ausbildung der Tochterkerne erfolgen; man findet ganz getrennte junge Kerne von noch deutlich nierenförmiger Gestalt, andererseits noch durch ein breites Kernnetz verbundene, aber schon ziemlich kugelige Tochterkerne.

Ungefähr von dieser Zeit an (also vom Übergang der nierenförmigen in kugelige Formen) zeigt sich an den Tochterkernen eine eigentümliche Erscheinung. Diese jungen Kerne werden jetzt durch Safranin leuchtend rotgefärbt, und zwar in einer ganz anderen Farbe als die früheren Stadien und auch die alten Kerne. Das Auffallendste an ihnen ist aber eine beinahe farblose, schwach lichtbrechende, verästelte Figur, die sich auf dem hellroten Kerne abhebt (Fig. 25—27). Bei genauerer Untersuchung ergibt sich, daß sie gebildet wird durch Ansammlung kleiner vacuolenartiger Körperchen,

welche sich durch schwache Lichtbrechung auszeichnen. Diese Körperchen können ganz verschieden gruppiert oder im Kerne zerstreut sein, wodurch sich die verschiedenen Verästelungen der Zeichnung erklären. Einige Körperchen sehen etwas dunkler aus, da ihr Inhalt schwach violett gefärbt ist; aber heller oder dunkler, in größerer oder kleinerer Menge, sind sie in jedem der jungen Kerne vorhanden. Die hellrote Färbung ist an ziemlich kleine Körnchen gebunden, welche den übrigen Kernraum ausfüllen. Sie erscheinen zuerst gleich groß und gleichmäßig gefärbt. Mit dem Heranwachsen wird der Kern mehr bunt, indem bei einigen der Körnchen die Farbe in Orange, bei anderen in Violett übergeht. (Auch HERTWIG zeichnet in seiner Fig. 11, Taf. III die Tochterkerne stark vacuolisiert.)

Ein merkwürdiger Fall einer simultanen Dreiteilung eines Kerns ist auf einem unserer Schnittpräparate zu beobachten (Fig. 28). Man sieht an diesem Kern drei Protoplasmakegel angesetzt; der Kern ist dementsprechend dreieckig umgeformt. Leider ist das Teilungsstadium noch sehr primitiv und die „Äquatorialplatten“ sind noch nicht ausgebildet.

Meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. O. BÜTSCHLI sage ich auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten und innigsten Dank.

Literaturverzeichnis.

1909 BOISSEVAIN, M.: Über Kernverhältnisse von Actinosphaerium Eichhorni. Arch. f. Protistenk. Bd. 13.

1877 BRANDT, K.: Über Actinosphaerium Eichhorni. Dissertation. Halle a. S.

1883 BRASS, A.: Organisation der tierischen Zelle.

1894 BRAUER, A.: Über Encystierung von Actinosphaerium. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 58.

1876 BÜTSCHLI, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. in: Abh. d. Senckenberg. naturf. Ges. Bd. X Frankfurt.

1880–82 —: Protozoa. in: BRONN's Klassen u. Ordn. d. Tierreichs Bd. 1a.

1902 CALKINS, G. N.: Studies on the Life-history of Protozoa. I. The Life-Cycle of Paramaecium caudatum. in: Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen Bd. 15.

1904 —: IV. Death of the A Series. Conclusions. in: Journal of Experimental Zoology Vol. 1 Nr. 3.

1841 DUJARDIN, F.: Histoire naturelle des Zoophytes Infusoires. Paris.

1877 Greeff, R.: Über die Encystierung und Fortpflanzung des Actinosphaerium. in: Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.

1899 Hertwig, R.: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium Eichhorni. in: Abh. d. bayr. Akad. d. Wiss., II. Kl. Bd. 19.

1899ª —: Was veranlaßt die Befruchtung der Protozoen? in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 15.

1900 —: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Ebenda Bd. 16.

1902 —: Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. in: Sitz.-Ber. d. bayr Akad. d. Wiss., II. Kl., Bd. 32.

1903 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 18.

1904 —: Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium Eichhorni. in: Festschr. f. E. Haeckel. Jena.

1898 Joukowsky, D.: Beiträge zur Frage nach den Bedingungen der Vermehrung und des Eintritts der Conjugation bei den Ciliaten. in: Verh. d. nat.-mediz. Vereins Heidelberg, N. F., Bd. 6.

1901 Kasanzev, W.: Experimentelle Untersuchungen über Paramaecium caudatum. Dissertation. Zürich.

1906 Khainski, A. J.: Physiologische Beobachtungen an Paramaecium. in: Arb. a. d. Zootom. Labor. d. Univ. Warschau Lief. 35.

1848 Kölliker, A.: Das Sonnentierchen Actinophrys sol. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 1.

1888 Maupas, E.: Recherches expérimentales sur la multiplication des infusoires ciliés. in: Arch. Zool. expér. et gén., Ser. II, T. VI.

1907 Popoff, M.: Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. in: Arch. f. Protistenk. Suppl. I.

1897 Przesmycki, M. v.: Intravitale Färbung des Kerns und des Protoplasmas. in: Biol. Centralbl. Bd. 17.

1874 Schulze, F. E.: Rhizopodenstudien. I. in: Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10.

1893 Schewiakoff, W.: Über die Natur der sog. Exkretkörner der Infusorien. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 57.

1901 Simpson, J. Y.: Observations on Binary Fission in the Life-history of Ciliata. in: Proc. Roy. Soc. Edinb. Vol. 8.

1899 Sosnowski, J. K.: Über das Verhältnis des Kerns zu dem Zellkörper bei Protozoa. Arb. a. d. Zootom. Labor. d. Univ. Warschau Lief. 20.

1901 Wallengren, H.: Inanitionserscheinungen der Zelle. in: Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. 1.

1905 Woodruff, L. L.: An experimental Study on the Life-history of Hypotrichous Infusoria. in: Journ. of exper. Zool. Vol. 2.

1904 Zuelzer, M.: Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata Carter. Arch. f. Protistenk. Bd. 4 1904.

Tafelerklärung.

Tafel XVII u. XVIII.

Fig. 1—6. Nach lebenden Actinosphärien gezeichnet. Prozeß der Ausstoßung von Protoplasma. Fig. 1 u. 3 Vergr. 150; Fig. 2, 4—6 Vergr. 500.

Fig. 7. Vergr. 400. Schnitt durch ein *Actinosphaerium* aus der Futterkultur. Pikrinessigsäure, Boraxkarmin; Nachfärbung mit Flemming's Dreifarbenverfahren. *A* dichter Haufen von Reservekörnchen.

Fig. 8. Vergr. 275. Präparat wie Fig. 7. Außen liegen zwei halbverdaute Paramäcien, welche in zweimal so kleinem Maßstab gezeichnet sind. *A* dichter Haufen von Reservekörnchen; *B* einzelne dieser Körnchen stärker vergrößert.

Fig. 9. Vergr. 540. Schnitt durch ein *Actinosphaerium* aus einer Hungerkultur (10 Tage Hunger). Kernverschmelzungen. Pikrinessigsäure. Flemming'sche Färbung.

Fig. 10. Vergr. 400. Schnitt durch ein *Actinosphaerium* nach 17 Tagen Hunger. Methode wie Fig. 9.

Fig. 11. Vergr. 575. Lebendes, mit Neutralrot behandeltes *Actinosphaerium*. *B* eine Vacuole bei oberflächlicher Einstellung.

Fig. 12. Vergr. 575. *B* lebendes *Actinosphaerium* mit Excretkörnchen. *A* einzelne Excretkristalle stärker vergrößert.

Fig. 13—28. Vergr. 1600.

Fig. 13 u. 14. Ruhender Kern mit Binnenkörpern und Körnchen. Chrom-Osmium-Essigsäure, Flemming'sche Färbung.

Fig. 15. Ruhender Kern mit vacuolisierten Binnenkörpern. Pikrinessigsäure. Boraxkarmin, Flemming'sche Färbung.

Fig. 16. Erste Andeutung von Konzentrierung des Kerninhaltes. Methode wie Fig. 13.

Fig. 17 u. 18. Verschiedene Ausbildung der Konzentrierung des Kerninhaltes. Methode wie Fig. 13.

Fig. 19. Primitives Stadium der Äquatorialplatte. Methode wie Fig. 13.

Fig. 20—23. Ausbildung der Äquatorialplatte und Auseinanderweichen ihrer geteilten Schichten. Chrom-Osmium-Essigsäure, Boraxkarmin, Eisenhämatoxylin.

Fig. 24. Schema der Vorgänge bis zur Durchschnürung des Kerns. Methode wie Fig. 20.

Fig. 25. Noch ungetrennte Tochterkerne mit auffallender Vacuolisierung. Methode wie Fig. 13. (In den Kernen hat hauptsächlich das Safranin gewirkt.)

Fig. 26 u. 27. Zwei junge Kerne mit verschieden ausgeprägter Vacuolisierung. Methode wie Fig. 13.

Fig. 28. Kern in simultaner Dreiteilung. Methode wie Fig. 20.

A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de volutine.

Par
A. Guilliermond.

(Avec 7 figures dans le texte.)

Lorsqu'on colore une cellule de Champignon ou d'Algue, on est immédiatement frappé de rencontrer, en dehors du noyau, un nombre considérable de grains qui présentent pour les colorants une affinité beaucoup plus grande que le noyau. Ces grains sur lesquels nous avons été l'un des premiers à attirer l'attention dès 1901, ont reçu les désignations de *corpuscules métachromatiques* ou de *grains de volutine.* Ce sont des grains de secrétion situés dans le cytoplasme ou plus souvent localisés dans les vacuoles au sein desquelles ils sont animés de mouvements browniens. Leur forme est sphérique et leurs dimensions sont extrêmement variables.

Les corpuscules métachromatiques sont caractérisés surtout par le fait qu'ils se colorent à l'état vivant par le rouge neutre et qu'ils offrent une forte affinité pour les colorants basiques: ils fixent électivement les teintures basiques bleues ou violettes d'aniline et l'hématoxyline avec lesquels ils prennent une couleur métachromatique rouge violacée.

L'étude de ces grains dont l'existence parait générale dans tous les Protistes, car ils ont été observé aussi chez les Protozoaires, a fait aujourd'hui des progrès considérables: il nous a paru nécessaire de résumer ici les connaissances acquises dans ces dernières années sur ces corps et d'essayer de choisir à ceux-ci un nom définitif. Les corpuscules métachromatiques ont en effet été décrits sous des noms

différents suivant les auteurs qui les ont observés et suivant les cellules où ils ont été rencontrés, ce qui amène une confusion fort regrettable dans une question qui devient cependant de plus en plus claire.

A la vérité, les corpuscules métachromatiques sont connus depuis fort longtemps chez les Bactéries où ils ont été décrits pour la première fois dans le Bacille de Koch par Babès [1]) en 1887 et pris d'abord pour des spores. Cet auteur les figure même dans son traité sur les Bactéries dans l'édition de 1886 (p. 686).

Neisser [2]), qui les observa en 1888 dans le Bacille Xérosis, les considéra aussi comme des spores. Ernst [3]) émit la même opinion et les désigna sous le nom de „grains sporogènes". Bütschli [4]) retrouve les corpuscules métachromatiques dans les Cyanophycées et les Sulfobactéries et les assimile à des grains de chromatine, auxquels il donne le nom provisoire de „grains rouges" en raison de leur métachromasie (coloration rougeâtre qu'ils prennent avec les colorants bleus). Palla [5]) et Nadson, [6]) les signalent dans les mêmes organismes sous le nom de „sphères mucilagineuses". C'est Babès, [7]) qui en 1895 leur donna pour la première fois une désignation correcte, celle de corpuscules métachromatiques, indiquant la propriété caractéristique de ces corps. Il les observe dans un grand nombre de Bactéries, notamment dans le Bacille de la Diphtérie et montre qu'ils ne peuvent être regardés comme des spores, mais qu'ils sembleraient plutôt représenter des noyaux.

Les corpuscules métachromatiques sont ensuite signalés dans les Diatomées par Lauterborn [8]), et dans l'*Ustilago Maydis* par Maire [9]). Matruchot et Molliard [10]) les retrouvent plus tard dans le *Stichococcus bacillaris* et les considèrent comme résultant en partie d'une dégénérescence nucléaire.

Nous [11]) avons été un des premiers à attirer l'attention sur

---

[1]) Babès: Congrès international d'hygiène de Vienne, 1887.

[2]) Neisser: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IV, 1888.

[3]) Ernst: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IV u. V, 1888.

[4]) Bütschli: Verhandl. Naturalist.-mediz. Vereins zu Heidelberg, 1890 u. 1896.

[5]) Palla: Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXV, 1893.

[6]) Nadson: Scinta botanica IV, 1895.

[7]) Babès: Zeitschr. f. Hygiene XX, 1895.

[8]) Lauterborn: Untersuchungen über den Bau der Diatomeen. Leipzig, 1896.

[9]) Maire: Bulletin de la Soc. mycologique de France 1898.

[10]) Matruchot et Molliard: Revue générale de Botanique 1903 et C. R. de l'Acad. des Sc. Bd. CXXXI, 1900.

[11]) Guilliermond: C. R. de l'Acad. des Sci. Janvier, Mai et Juillet, 1901.

l'importance et la fréquence de ces corps chez les Protistes. Dès 1901, dans trois notes préliminaires publiées dans les comptes rendus de l'Académie des Sciences, nous avons montré leur existence dans les Levûres où ils sont localisés dans une vacuole qui avait été prise par Wager pour un noyau d'organisation primitive, dont les corpuscules métachromatiques représentaient les grains de chromatine. Nous avons démontré que ces corps n'offrent pas les propriétés microchimiques de la chromatine et par l'étude de leur caractères vis-à-vis des fixateurs et des colorants, nous avons pu les identifier aux grains sporogènes de Ernst, aux grains rouges de Bütschli et aux corpuscules métachromatiques de Babès. Nous avons montré en outre, que la vacuole qui renferme ces grains n'a aucun caractère nucléaire. Par contre nous avons différencié dans le cytoplasme un véritable noyau, présentant les caractères et la structure des noyaux typiques (fig. 1, *1* à *5*).

Nous avons observé également la présence de nombreux corpuscules métachromatiques dans diverses moisissures (*Oidium lactis*, *Dematium*, *Penicillium glaucum*, etc. ...) fig. 2, *1* à *3*.

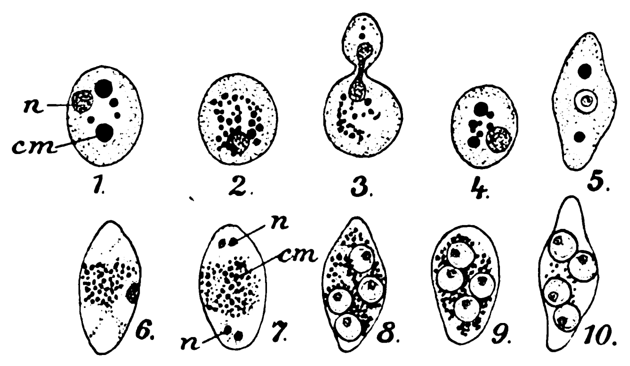


Fig. 1. 1 à 4. *Saccharomyces cerevisiae.* Cellules au début du développement montrant un noyau (*n*) et des corpuscules métachromatiques (*cm*) localisés dans les vacuoles. 5 à 10. *Saccharomycodes Ludwigii.* 5. Cellule au début du développement avec deux vacuoles polaires renfermant chacune un corpuscule métachromatique. 6 et 7. Cellules de préparant à sporuler dans lesquels les corpuscules métachromatiques se pulvérisent. 8 à 10. Divers stades de la sporulation et de l'absorption des corpuscules métachromatiques par les spores. (Fixation à l'Alcool, coloration à l'hémalun.)

Les corpuscules métachromatiques sont presque toujours localisés dans les Levûres et les moisissures que nous avons observé dans les vacuoles [1]) dans l'interieur desquelles ils apparaissent sur

[1]) C'est donc à tort que A. Meyer et plus récemment Wager et Peniston

le frais sous forme de granules refringents, sphériques, de dimensions extrêmement variables et animés de mouvements browniens. On en rencontre aussi parfois dans le cytoplasme sur le pourtour des vacuoles. C'est donc vraisemblablement dans le cytoplasme qu'ils sont élaborés pour se déverser ensuite dans les vacuoles aux dépens desquelles ils achêvent leur accroissement. Ils prennent à l'état vivant certains colorants [1]) tels que le bleu de méthylène, le bleu de Nil et le rouge neutre, et présentent après fixation [2]) une vive affinité pour les colorants nucléaires. Ils fixent électivement la plupart des teintures basiques d'aniline bleues ou violettes (bleus de méthylène, de toluidine, de cresyl, de Unna, violet de gentiane, thionine etc.) et prennent avec elles une coloration variant du rouge vineux au violet. Ils se colorent en bleu légèrement violacé par le vert de méthyle et en rouge vineux par l'hématoxyline. Ils fixent enfin, mais pas d'une manière très élective, l'hématoxyline ferrique et la safranine. Les corpuscules métachromatiques sont d'ordinaires sphériques: le centre se colorent plus faiblement que la périphérie qui est toujours très chromophile.

Nos observations sur les Levûres et les moisissures ont donc établi d'une manière définitive que les corpuscules métachromatiques ne sont pas des grains de chromatine comme Bütschli, Wager et d'autres auteurs l'avaient soutenu, mais des grains de sécrétion.

Il était difficile de suivre l'évolution des corpuscules métachromatiques dans les Bactéries, les Cyanophycées et les diverses Algues dans lesquelles ces corps ont été signalés pour la première fois. Au

(Annals of Botany 1910) ont soutenu que les corpuscules métachromatiques des Levûres sont presque toujours situés dans le cytoplasme sur le pourtour des vacuoles et non dans les vacuoles elles-mêmes. Les corpuscules métachromatiques sont au contraire presque exclusivement localisés dans l'intérieur des vacuoles et il est facile d'en avoir la preuve par les colorations vitales au rouge neutre ou au bleu de méthylène qui les differencient dans les vacuoles au sein desquelles ils continuent leurs mouvements browniens.

[1]) A. Meyer considère ces colorations comme post-vitales. C'est là une erreur. Elles sont au contraire essentiellement vitales et ce qui le prouve c'est que toute la cellule (noyau et cytoplasme) reste incolore, jusqu'au moment de la mort de la cellule. D'ailleurs, on peut colorer par les mêmes procédés certains Protozoaires qui renferment des corpuscules métachromatiques: ces derniers fixent le rouge neutre tandisque l'animal continue ses mouvements dans la préparation, ce qui démontre qu'il s'agit bien d'une coloration vitale.

[2]) Nous avons montré que les fixations ne réussissent pas toutes pour les corpuscules métachromatiques. C'est ainsi que le Flemming, le Perenyi, l'acide picrique, sans dissoudre les corpuscules métachromatiques, entravent leur coloration. Les fixations de choix sont réalisées par l'alcool, le Lenhossék, le formol et le picroformol de Bouin.

contraire, les Levûres offraient un excellent objet d'étude pour cette question, par suite de leurs dimensions relativement grandes et surtout de la facilité avec laquelle elles laissent observer tout leur développement en culture artificielle.

Nous avons donc pu, pour la première fois observer l'évolution de ces corps et la manière dont ils se comportent durant le développement des Levûres. Cette étude nous a amené à considérer les corpuscules métachromatiques comme des matières de réserve. En effet, ces corps sont surtout abondants dans les périodes de grande activité de la Levûre; ils diminuent de nombre, ou disparaissent complètement dans les cellules âgées ou soumises à l'inanition. Enfin, ils deviennent excessivement abondants dans les asques où ils persistent dans l'épiplasme autour des spores jeunes, mais en subissant

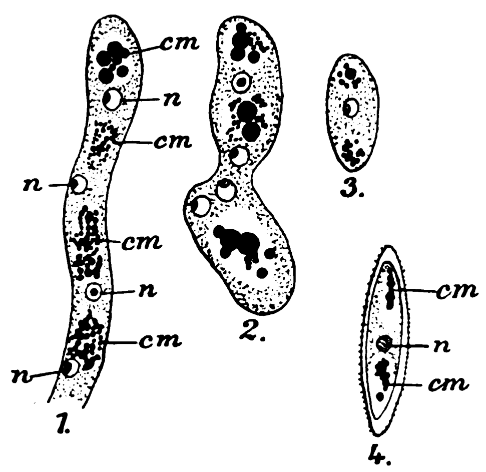


Fig. 2. 1 à 3. *Dematium* (*species*). 1. Filament du mycélium montrant des vacuoles remplies de corpuscules métachromatiques. 2. Levûre en voie de germination. 3. Forme levûre. 4. Cellule de Diatomée. (Fixation à l'Alcool, coloration à l'hémalun.)

une sorte de pulvérisation et de dissolution. Ils disparaissent enfin entièrement à la maturité des spores, absorbés par ces dernières. Ils se comportent donc exactement comme les globules de graisses et le glycogène, qui coexistent avec eux dans l'épiplasme, et semblent par conséquent jouer le role de matière de réserve utilisée surtout à la formation des spores (fig. 1, *6* à *10*).

Dans un mémoire définitif[1]), paru en Juin 1902, accompagné de

[1]) Guilliermond: Rech. cytol. sur les Levûres. Thèse de doctorat de la faculté des Sciences de Paris. Storck, éditeur, Lyon 1902 (résumé dans la Revue générale de Botanique, 1903).

nombreuses planches, nous avons figuré les corpuscules métachromatiques dans les Levûres et décrit en détail les caractères et l'évolution de ces corps. Comme ces corps avaient été désignés sous des noms très différents par les nombreux auteurs qui les avaient observés dans divers Protistes (grains rouges de Bütschli (1890), grains sporogènes de Ernst (1888), corpuscules métachromatiques de Babès (1895), sphères mucilagineuses de Palla (1895) et Nadson (1893)), il fallait leur donner une désignation définitive et c'est pour cela que nous avons cru nécessaire de leur conserver celui de corpuscules métachromatiques, créé par Babès en 1895. Les noms de grains sporogènes et de sphères mucilagineuses devaient disparaître parcequ'ils correspondent à une interprétation inexacte de la signification ou de la nature de ces corps. D'autre part, le terme de grains rouges n'avait été créé qu'à titre provisoire; il était trop vague pour persister et, de plus, prêtaient à des confusions. Seule la désignation de corpuscules métachromatiques était bien choisie et indiquait une des propriétés caractéristiques de ces corps. En outre, il nous semblait juste de maintenir ce nom donné par Babès à qui l'on doit la découverte de ces corps. C'est donc pour ces raisons qu'il nous a paru légitime de conserver ce nom de corpuscules métachromatiques que nous avons sans cesse employé dans la suite et qui a été généralement adopté en France, en Russie et en Angleterre.

Dans un article paru en 1902, à la même époque où nous publions notre mémoire définitif sur la cytologie des Levûres, Grimme [1]) (1902), un élève d'Arthur Meyer, arrivait, sans connaître nos recherches, à des résultats absolument analogues aux nôtres, avec l'étude d'un certain nombre de Bactéries dont le *Spirillum volutans.* Par une série de réactions, il montrait que les corpuscules métachromatiques ne sont pas des grains de chromatine et l'évolution de ces corps dans les développement des Bactéries l'amenait à les considérer comme des matières de réserve. Grimme cru devoir donner aux corpuscules métachromatiques le nom provisoire de „*Volutanskugel*“, (boules de volutans) en, raison de leur abondance dans le *Spirillum volutans.*

Un peu plus tard, Conte et Vaney [2]) observent des corpuscules métachromatiques dans un Protozoaire, l'*Opalina intestinalis*, J. Villard [3]) dans les Zoochlorelles de Hydre d'eau douce, Maire [4]) dans le *Botyosporium pulchellum.*

[1]) Grimme: Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XXXII, 1902.

[2]) Conte et Vaney: C. R. Ac. des Sciences T. CXXXV, 1902.

[3]) Villard: C. R. Ac. des Sciences T. CXXXXI, 1903.

[4]) Maire: Annales mycologici, 1903.

Nous avons poursuivi de 1902 à 1904 l'étude des corpuscules métachromatiques dans divers Champignons et Algues et nous avons insisté sur la fréquence de ces corps dans les Desmidiées, Diatomées, Euglènes et Bactéries, ainsi que dans la plupart des moisissures et des Ascomycètes. Dans les Diatomées, les corpuscules métachromatiques sont localisés dans les vacuoles comme chez les Levûres (fig. 2, 4).



Fig. 3. *Ascobolus marginatus.* (Fixation au picroformol, coloration au bleu Unna.) 1 à 5. Jeunes asques dans lesquels les corpuscules métachromatiques sont en voie d'élaboration dans les vacuoles situées en dessus et en dessus du noyau. 6. Asque avec quatre noyaux, résultant de la deuxième mitose. 7. Début de la formation des spores. 7 à 12. Diverses phases du développement des spores. 13. Fragment d'une coupe transversale du périthèce montrant des asques où les spores sont encore entourées de corpuscules métachromatiques et d'autres où elles sont parvenues à l'état adulte après avoir absorbé ces derniers.

[5]) Guilliermond: Lyon médical C. R. Ac. des Sciences, Janvier et Mai, 1903. Annales mycologici 1903. Centralbl. f. Bakteriol. 1903. C. R. Ac. des Sciences, Décembre 1903. Revue générale de Botanique, Janvier, 1904.

Dans les Ascomycètes, où les cellules très grosses présentent une grande facilité d'étude, les corpuscules métachromatiques se comportent exactement comme dans les Levûres. Ils s'accumulent en très grande quantité, en même temps que le glycogène et les globules de graisses, dans les jeunes asques. Ceux-ci, offrent à leur naissance un gros noyau situé dans un cytoplasme très dense et homogène qui occupe le centre de la cellule et aux dépens duquel se constitueront les spores. Tout le reste de la cellule est formé d'un

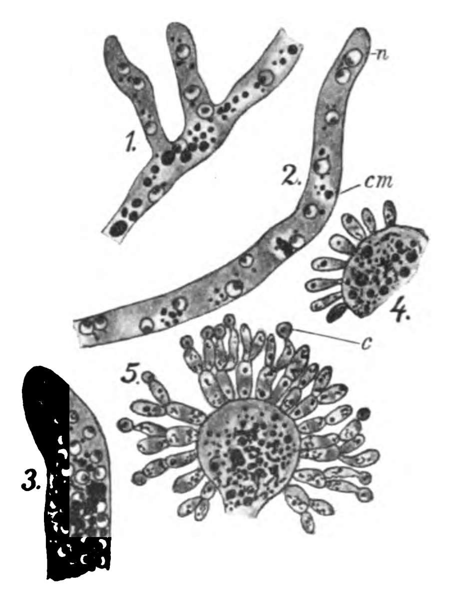


Fig. 4. *Sterigmatocystis nigra.* 1 et 2. Filaments du mycélium avec noyaux (*n*) et corpuscules métachromatiques (*cm*). 3. Extremité d'un filament destiné à fournir une tête fructifère, rempli de noyaux et de corpuscules métachromatiques. (Fixation à l'Alcool, coloration à l'Hémalun.) 4 et 5. Divers stades de formation des têtes fructifères (*c* = conidies). Les corpuscules métachromatiques sont seuls colorés. (Fixation à l'Alcool, coloration au bleu de methylène.

cytoplasme alvéolaire dont les alvéoles sont remplies de petits corpuscules métachromatiques (fig. 3, *1* à *5*). C'est aux dépens de ce cytoplasme alvéolaire que se forme l'épiplasme, c'est à dire le cytoplasme destiné à alimenter les spores. Lors de la formation des spores, les corpuscules métachromatiques, après avoir augmenté de nombre et de volume, subissent une sorte de dissolution; ils se résolvent en une poussière de petits grains qui s'agglomèrent autour des spores (fig. 3, *7* à *11*) et sont peu à peu absorbés par ces dernières pendant leur maturation. Finalement, lorsque les spores sont devenues adultes,

il ne reste plus aucune trace de corpuscules métachromatiques: tout l'épiplasme avec son glycogène, ses graisses et ses corpuscules métachromatiques, a été absorbé par les spores (fig. 3, *12* et *13*). Les corpuscules métachromatiques subissent donc la même évolution que les graisses et le glycogène et jouent incontestablement le rôle de matière de réserve.

Dans le *Sterigmatocystis nigra* et dans le *Penicillium glaucum*, nous avons montré également que les corpuscules métachromatiques deviennent très abondants dans les têtes fructifères et sont utilisés à la formation des conidies (fig. 4).

Nos observations sur l'évolution des corpuscules métachromatiques dans les asques des Ascomycètes et dans les appareils fructifères des moisissures démontent donc d'une manière très précise le rôle de matière de réserve de ces corps et apportent la seule preuve décisive nous ayons jusqu'ici en faveur de ce rôle.

Sans tenir compte de nos recherches et de la désignation de corpuscules métachromatiques que nous avons donné à ces corps, A. MEYER [1]), dans son Praktikum der botanischen Bakterienkunde, paru en 1904, a cru devoir substituer au terme de corpuscules métachromatiques celui de grains de volutine, rappelant que ces corps ont été observé, par son élève GRIMME dans le *Sp. volutans*, où ils existent en grande abondance.

Ce n'est qu'en 1904, après les travaux que nous venons d'énumérer, que A. MEYER [2]) a repris l'étude des corpuscules métachromatiques dans un important mémoire où il vérifie simplement les résultats que nous avions obtenus, relativement aux caractères de coloration, [3]) à l'évolution et au rôle de ces corps. Il ajoute cependant

---

[1]) A. MEYER: Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena (G. Fischer), 1903.

[2]) A. MEYER: Botan. Ztg., Heft 7, 1904.

[3]) A. MEYER conteste la métachromasie des corpuscules métachromatiques, notamment par l'hématoxyline. Il constate seulement que la volutine prend une teinte un peu violacée avec le bleu de méthylène, qui d'après lui provient de ce que ce colorant est impur et renferme du violet de méthylène qui se fixe électivement sur la volutine. A. MEYER n'a pas employé le bleu Unna, le bleu de cresyl, le bleu de toluidine et la thionine, qui donnent aux corpuscules métachromatiques une teinte rouge excessivement accusée. D'autre part, cet auteur se trompe lorsqu'il conteste la coloration métachromatique de la volutine par l'hématoxyline. Cette coloration est au contraire excessivement nette et tranche sur celle du noyau qui prend une teinte d'un bleu mat. D'ailleurs tous les auteurs, qui ont observé cette coloration, sont unanimes à constater ses caractères métachromatiques. La volutine est donc une substance essentiellement métachromatique. Contrairement à A. MEYER, nous ne pensons pas que la métachromasie puisse être

à la liste des colorants que nous avions indiqué, le rouge du ruthénium qui selon lui donne une coloration élective des corpuscules métachromatiques.

La partie vraiment originale de ce mémoire est celle qui concerne la microchimie des corpuscules métachromatiques et leur nature chimique. A. MEYER a essayé, en effet, de compléter les caractères de coloration que nous avions indiqué par de nombreuses réactions microchimiques. Celles-ci inutiles pour reconnaître les corpuscules métachromatiques, les caractères de coloration que nous avions indiqués étant largement suffisants pour cela, ont cependant apporté un réel progrès à la connaissance de ces corps et rendu de grands services lorsqu'il s'est agi de rapprocher la volutine d'autres substances (globoïdes et granulations des Mastzellen) dont nous parlerons plus loin. Il serait trop long énumérer ici ces réactions. Bornons pour à dire que A. MEYER a pu établir huit réactions fondamentales de la volutine.

Enfin pour une série de raison, A. MEYER a été amené à émettre l'hypothèse que les corpuscules métachromatiques sont formés d'une combinaison d'acide nucléique avec une base inconnue, probablement organique. En effet, cet auteur a constaté que l'acide nucléique extrait de la Levûre par KOSSEL présente un certain nombre des réactions caractéristiques de la volutine. D'autre part, il montre que la volutine se rencontre surtout dans les cellules où l'on a trouvé une grande quantité d'acide nucléique, tels que les Levûres et certaines Bactéries. Or dans les Levûres, le noyau est relativement petit; de plus, il est pauvre en chromatine: il est donc probable que la plus grande partie de l'acide nucléique extrait par KOSSEL correspond non pas au noyau, mais aux corpuscules métachromatiques dont les levures sont si richement pourvues. Cette hypothèse est très vraisemblable et a été adopté par un grand nombre d'auteur, notamment par REICHENOW et KOHL[1]). Ce dernier considère

due à une impureté de la matière colorante, car en cas, la coloration métachromatique ne se produirait pas avec la régularité que l'on constate, avec la plupart des colorants d'aniline bleus ou violets et avec l'hématoxyline. Nous ne croyons pas d'avantage qu'elle résulte d'un phénomène physique contrairement à ce qu'ont soutenu certains auteurs: c'est d'ailleurs l'avis de plusieurs physiciens que nous avons consulté. Elle résulte, selon nous d'un phénomène chimique dont la signification nous échappe encore. Nous avons exposé nos idées à ce sujet dans nos recherches cytologiques sur les Levûres. (Storck, éditeur, Paris, 1902), et dans notre mémoire sur les grains d'aleurone des Graminées (Archives d'anatomie microscopique 1908).) Nous renvoyons le lecteur à ces deux mémoires.

[1]) KOHL: Die Hefepilze. Quelle et Meyer. Leipzig, 1908.

les corpuscules métachromatiques comme des nucléoprotéides, ce qui revient à peu près au même.

Depuis le mémoire de A. Meyer, les corpuscules métachromatiques ont fait l'objet d'un très grand nombre de travaux.

Tout d'abord les Bactériologistes Allemands, frappés de l'abondance de ces corps dans les Bactéries et ayant cru remarquer une certaine relation entre leur présence et la virulence des Bactéries, ont été à conduits les considérer comme des éléments producteurs de toxines, sortes de protoxines ou grains de toxigène. C'est l'opinion qui a été soutenue en 1905 par Behring. Dans une nouvelle série de recherches nous [1]) avons montré que cette opinion est inexacte et que les corpuscules métachromatiques sont bien des matières de réserve comme nous l'avions soutenu en 1901.

Nous [2]) avons repris l'étude des corpuscules métachromatiques dans les Cyanophycées et les Bactéries.

Un intérêt spécial s'attache à l'étude de ces corps dans les Cyanophycées. En effet, nous avons confirmé l'opinion de Bütschli et montré que les Cyanophycées renferment un noyau très primitif, occupant la majeure partie de la cellule et formé simplement d'un nucléolyaloplasme et d'un réseau chromatique; il n'y existe ni membrane, ni nucléole. Ce noyau est donc en communication directe avec le cytoplasme. Or c'est dans l'intérieur même de ce noyau que sont localisés les corpuscules métachromatiques qui semblent se former aux dépens du réseau chromatique (fig. 5). Ici, c'est donc le noyau lui-même qui élabore les corpuscules métachromatiques. Ces faits semblent donc nous autoriser à penser que le noyau participe également à la secrétion des corpuscules métachromatiques dans les autres organismes. On admet aujourd'hui que le noyau joue presque toujours un rôle dans les secrétions par des échanges osmotiques produits entre cet organe et le cytoplasme, qui se traduisent par des modifications de structure et des variations de chromaticité du noyau. Cependant jusqu'ici, nous ne connaissons dans les Champignons aucun fait qui permette de démontrer ou de préciser ce rôle dans la secrétion des corpuscules métachromatiques.

Malgré leur origine nettement nucléaire, les corpuscules métachromatiques des Cyanophycées se comportent comme ceux des Champignons; ils jouent bien le rôle de matières de reserve et ne peuvent être considérés comme des produits de dégénérescence. Ils s'observent

---

[1]) Guilliermond: Lyon médical, 1905. Bull. Inst. Pasteur, 1906.

[2]) Guilliermond: Rev. gén. de Botanique, 1901.



surtout dans les cellules jeunes et disparaissent dans les cellules agées ou en voie de dégénérescence.

Dans les Bacteries, nous[1]) avons observé des corpuscules métachromatiques dans plusieurs espèces (*Bacillus radicosus*, *mycoïdes*, *megatherium*, *alvei*, *asterosporus*, *Spirillum volutans*). Ces espèces n'offrent jamais de noyau, mais elles renferment des grains disséminés dans la trame d'un cytoplasme alvéolaire et qui presentent les réactions de la chromatine. Ceux-ci se condensent en partie lors de la sporulation, pour former l'ébauche de la spore qui apparaît comme un granule très chromophile ressemblant beaucoup à un noyau. Cette structure correspond donc absolument à celle qui a été décrite par Schaudinn et, comme cet auteur, nous avons été amené à considérer les Bactéries comme des organismes à noyau diffus. Mais, à côté des grains de chromatine, on observe aussi dans le cytoplasme des corpuscules métachromatiques qui d'ailleurs sont faciles à déstinguer des autres granulations par la colaration rougeâtre qu'ils prennent avec l'hémateine et les teintures bleues d'aniline. Contrairement à l'opinion soutenue par A. Meyer, il n'existe donc pas de noyau dans les Bactéries et les formations décrites comme telles pour cet auteur semblent imputables à des corpuscules métachromatiques. C'est ainsi d'ailleurs que dans le *Bacillus asterosporus*, nous avons observé, au début du développement, l'existence au milieu de chaque cellule d'un seul corpuscule métachromatique, ressemblant tout à fait à un noyau. C'est ce corps qui a été pris par Meyer pour un noyau et il faut remarquer d'ailleurs qu'à l'époque où cet auteur a observé la structure des Bactéries, il ne connaissait pas les corpuscules métachromatiques. Ainsi contrairement à ce qu'a soutenu A. Meyer, la structure décrite par Schaudinn est bien exacte et si une partie des grains considérés par ce dernier comme des grains de chromatine peuvent être attribués à des corpuscules métachromatiques, il est hors de doute que le plus grand nombre, notamment ceux qui se condensent pour former des spores n'offrent pas les propriétés de la volutine et peuvent être considérés comme des grains de chromatine.

Autant qu'on peut en juger, les corpuscules métachromatiques des Bactéries sont surtout localisés dans la trame cytoplasmique et on en observe pas dans les vacuoles; c'est au moins le cas de *Sp. volutans* (fig. 6).

D'une manière générale, les corpuscules métachromatiques sont beaucoup moins répandus dans les Bactéries que dans les Champignons.

---

[1]) Guilliermond: C. R. de l'Acad. des Sci., 1906. — Arch f. Protistenk., 1908.



S'ils sont très nombreux dans certaines espèces (*B. alvei*, *astrosporus*, *Sp. volutans*), on n'en rencontre qu'exceptionellement dans beaucoup d'autres espèces (*B. mycoïdes*, *megatherium*, *radicosus*).

Relativement à l'évolution des corpuscules métachromatiques, nous avons pu vérifier les résultats de Grimme et constater l'absorption de ces corps par les spores.

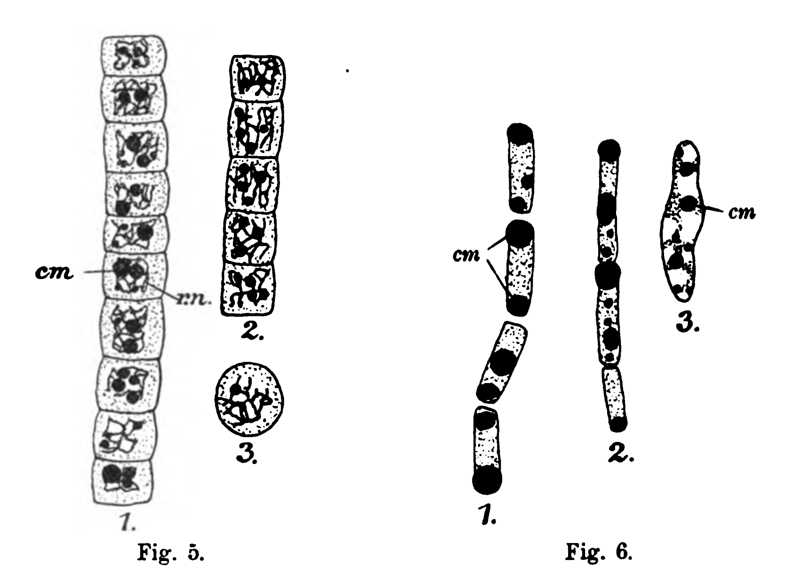


Fig. 5. Fig. 6.

Fig. 5. *Phormidium favosum.* 1 et 2. Coupes longitudinales montrant le réseau nucléaire (*rn*) et les corpuscules métachromatiques (*cm*) insérés sur ce réseau. (Fixation au picroformol, coloration à l'hémalun.)

Fig. 6. 1 *Bacillus radicosus.* 2 *Bacillus alvei.* 3 *Spirillum volutans.* (Fixation au Lenhossék, coloration au bleu de méthylène.)

Les corpuscules métachromatiques ont fait l'objet dans ces derniers temps d'un très grand nombre d'observations nouvelles notamment chez les Protozoaires. C'est ainsi que Fauré-Fremiet [1]) constate dans un Amoebien, le *Chochliopodium pellucidum*, des grains colorables en rouge violacé par le bleu de crésyl et qui nous paraissent se rapporter à des corpuscules métachromatiques. Prowazek [2]) signale de la volutine dans divers Flagellés; Sassi [3]) dans le *Polytoma*

---

[1]) Fauré-Fremiet: Arch d'anat. microsc., 1905.
[2]) Prowazek: Zool. Anz., 1908.
[3]) Sassi: Mitteil. d. naturw. Vereins a. d. Univ. Wien Jahrg. 5, 1907.

uvella, dans les Euglènes et les Volvocinés; Schubotz[1]) dans *l'Amoeba proteus* et *l'Amoeba villosa;* Merton[2]) dans *Pleodorina;* Hamburger[3]) dans *Dunaliella salina;* Kunze[4]) démontre que les grains décrits dans les Coccidies par Labbé[5]) sous le nom de *grains chromatoïdes* et par Schaudinn[6]) sous celui de *grains hématoxynophiles* ne sont autre chose que des corpuscules métachromatiques.

Swellengrebel[7]) a rencontré aussi des corpuscules métachromatiques dans les Trypanosomes, ceux-ci sont localisés dans le cytoplasme situé en dessus et en dessous du noyau et correspondent à des formations que plusieurs auteurs avaient décrites comme des chromidies. D'après Swellengrebel, ils dériveraient d'une dégénérescence nucléaire.

Tout récemment Eduard Reichenow[8]) dans une étude sur l'*Haematococcus pluvialis* et divers Flagellés montre que les corpuscules métachromatiques sont très abondants dans ces organismes et semblent y jouer un rôle considérable. Il passe en revue tous les corps observés dans divers Protozoaires qui semblent devoir correspondre aux corpuscules métachromatiques et se demande si les chromidies de R. Hertwig et ses élèves ne rentreraient pas dans la catégorie de la volutine.

Reichenow pense, comme A. Meyer, que les corpuscules métachromatiques sont constitués d'acide nucléique. Il appuie cette opinion sur les travaux de Giemsa qui a démontré que la coloration du noyau est en relation avec sa teneur en acide métaphosphorique. L'auteur admet qu'il en est de même pour la coloration des corpuscules métachromatiques. Pour vérifier cette opinion, il essaye de cultiver l'*Haematococcus* dans des milieux absolument dépourvus de Phosphore. Il a pu constater que, dans ces milieux, les corpuscules métachromatiques formés antérieurement dans les cellules se dissolvent très rapidement et qu'à partir de ce moment les cellules n'en élaborent plus. Cela semble démontrer que ces corps renferment du Phosphore, et confirmer l'opinion qu'ils sont constitués par de l'acide nucléique qui on le sait, est très riche en Phosphore.

---

[1]) Schubotz: Arch. f. Protistenk. Bd. 6, 1905.
[2]) Merton: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 90, 1908.
[3]) Hamburger: Arch. f. Protistenk., 1905.
[4]) Kunze: Arch. f. Protistenk.. 1907.
[5]) Labbé: Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5, 1888.
[6]) Schaudinn: Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 13, 1900.
[7]) Swellengrebel: C. R. Soc. de Biol., 1908.
[8]) Eduard Reichenow: Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 33 Heft, 1 1909.

Relativement au rôle des corpuscules métachromatiques, REICHENOW admet que ces corps sont des matières de réserve destinées à servir à la nutrition du noyau. Il décrit longuement les processus de dissolution des ces corps pendant la division nucléaire. Ces processus sont absolument comparables à ceux que nous avons observé en 1901 dans la sporulation des Levûres et il est regrettable que l'auteur ignore entièrement nos travaux à ce sujet.

REICHENOW développe une théorie nouvelle pour préciser le rôle de reserve des corpuscules métachromatiques, rôle qu'il considère avec raison comme d'une importance capitale. On sait que R. HERTWIG a montré que dans les Protozoaires la croissance du noyau aux dépens du cytoplasme est en relation avec l'activité vitale de la cellule. Si le noyau, après avoir fonctionné très activement devient trop volumineux, il se produit une perturbation de la cellule qui tombe dans un état dépressif, duquel elle peut se relever par un processus régulateur (expulsion d'une partie de sa chromatine sous forme de chromidies. Or dans l'*Haematococcus,* on ne constate jamais cet état de dépression et REICHENOW l'explique par l'hypothèse suivante: il pense que les corpuscules métachromatiques formés dans le cytoplasme, au lieu de s'accumuler en excès dans le noyau sont retenus en grande partie dans le cytoplasme sous forme de produits de réserve. Dans ces conditions, le noyau ne prendrait jamais un développement exagéré et échapperait à l'état dépressif que l'on constate dans les Héliozoaires et dans les Infusoires d'après R. HERTWIG.

Les corpuscules métachromatiques ont donné lieu encore dans ces derniers temps à un certain nombre d'études dans les Champignons et les Algues. WORONICHIN [1]) observe les caractères et l'évolution de ces corps dans diverses moisissures (*Penicillium glaucum*, *Sterigmatocystis nigra*, *Botrytis cinerea*) et arrive à une confirmation complète de nos résultats. Comme nous, il constate leur accumulation dans les têtes fructifères du *Penicillium* et du *Sterigmatocystis* et leur utilisation à la formation des conidies. Il admet donc que les corpuscules métachromatiques sont des matières de réserve. HEINZERLING [2]) décrit des corpuscules métachromatiques dans un très grand nombre d'espèces de Diatomées. NADSON et BRULLOVA [3]) signalent leur existence dans les *Vaucheria* où ils avaient été pris par OLTMANNS pour de petits noyaux. FANTHAM et PORTER [4]) les

[1]) WORONICHIN: Scripta botanica, 1906.

[2]) HEINZEREING: Bibliotheca botanica, 1908.

[3]) NADSON et BRULLOVA: Bull. Jard. Imp. Bot. St. Petersburg T. 7, 1909.

[4]) TANTHAM et PORTER: Centralbl. f. Bakteriol., 1909.

observent dans une nouvelle espèce de Bactérie, le *Bacillus arenicolae*, et désignent leur substance sous le nom de „*métachromatine*“, en raison du nom que nous leur avions conservé de corpuscules métachromatiques.

Les corpuscules métachromatiques se rencontrent-ils exclusivement dans les Protistes, ou existent-ils également dans les cellules des Métazoaires et des Métaphytes?

C'est A. Meyer, qui le premier en 1904 s'est posé cette question et a contribué le plus à la résoudre. Cet auteur a observé à ce point de vue un grand nombre de tissus de divers végétaux supérieurs et n'y a jamais rencontré de volutine. Cependant les globoïdes des grains d'aleurone des graines de Ricin lui ont montré quelques unes des réactions caractéristiques de la volutine. Aussi a-t-il émis l'opinion que les globoïdes renfermeraient peut-être une substance voisine de la volutine.

Les recherches que nous [1]) avons entreprises, soit en collaboration avec M. Beauverie, soit isolément, ont justifié cette opinion. M. Beauverie et nous, avons montré qu'en effet que les globoïdes de différentes graines (Ricin, Courge, Graminées, Lupin, etc.) renferment, outre les matières organo-minérales (saccharo ou glycéro-phosphates de Ca et de Mg) décelées par l'analyse chimique de Pfeffer, une

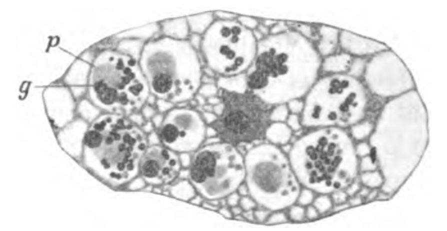


Fig. 7.
Cellule de l'albumen de *Ricinus communis* après 4 jours de germination (fixation au formol, coloration au bleu de Cresyl BB). Les grains d'aleurone sont transformés en vacuoles dans lesquels on distingue des globoïdes, (*g*) colorés en rouge foncés et des cristalloïdes de poteine en voie de dissolution, teints en bleu pâle (dessin inédit).

substance azotée. Celle-ci offre une vive affinité pour les colorants basiques et prend une coloration rouge violacée avec la plupart des teintures basiques d'aniline bleues ou violettes, comme les corpuscules métachromatiques (fig. 7). Elle se colore également par le

[1]) Guilliermond et Beauverie: C. R. Ac. des Sciences, 1906.
Guilliermond: Arch. d'anatomie microscopique, 1908.
Beauverie: Annal. des Sciences naturelles, 1908.

rouge de ruthénium et le vert de méthyle et présente cinq des huit réactions caractéristiques de A. Meyer. Ces caractères nous ont donc amenés, M. Beauverie et nous, à penser que les globoïdes renfermaient une substance azotée qui serait voisine de la volutine et servirait de réserve à l'embryon. Néanmoins, cette substance diffère par un certain nombre de caractères de la volutine, et notamment par l'absence de coloration par l'hématoxyline: il n'est donc pas permis de l'identifier à cette dernière et le rapprochement que nous avons établi entre ces deux substances, quoique très vraisemblable, reste encore hypothètique.

Dans le même ordre d'idées, nous avons montré avec M. Mawas[1]) que les granulations basophiles des Mastzellen ou leucocytes à granulations basophiles présentent de très grandes analogies avec la volutine. Ces granulations peuvent donc également être considérées comme formées d'une substance très voisine de la volutine: elles se colorent, en effet, vitalement, par le rouge neutre et le bleu de métylène, et prennent, après fixation et d'une manière élective, la plupart des colorants d'aniline bleus ou violets qui leur donnent une teinte métachromatique très accusée. Elles fixent en outre le rouge de ruthénium, la safranine, le vert de méthyle, et présentent la plupart des réactions caractéristiques d'A. Meyer. Elles ne diffèrent guère de la volutine que par le fait qu'elle ne se colorent pas par l'hématoxyline; cependant Jolly[2]) a constaté que les Mastzellen de la moelle osseuse du rat fixent ce colorant. On sait d'ailleurs que les granulations des Mastzellen sont considérées par la plupart des histologistes, notamment par Ehrlich, comme des matières de réserve destinées à se fixer sur certains tissus et à leur servir d'aliments.

Il semble donc résulter de ces travaux que la volutine existerait aussi dans les cellules des organismes supérieurs bien que beaucoup plus rarement que dans les Protistes et avec des propriétés un peu différentes.

Il est d'ailleurs probable qu'il y a de nombreuses variétés de volutine présentant toutes un ensemble de caractères essentiels communs, mais différents par certaines propriétés secondaires. C'est ce qu'a montré d'ailleurs A. Meyer qui remarqué que la volutine n'offre pas toujours les mêmes caractères dans tous les organismes où elle se rencontre: il considère donc la volutine comme une sub-

[1]) Guilliermond et Mawas: C. R. Soc. de Biol., 1908.

[2]) Jolly: Arch. d'anat. microsc. T. 3, 1901.

stance dont la composition peut varier dans une certaine mesure, mais qui donne néanmoins une série de réactions concordantes et parfaitement caractéristiques. La volutine comprendrait toute une série de variétés très proches les unes des autres et constituerait une groupe chimique comme les graisses, les sucres, l'amidon etc.... A. Meyer a d'ailleurs observé dans certaines Algues une variété spéciale de volutine qu'il désigne sous le nom de l-volutine.

Il résulte donc de l'exposé que nous venons de faire du grand nombre de travaux publiés récemment sur cette question que les corpuscules métachromatiques sont aujourd'hui très connus par leur propriété histo-chimiques ainsi que par leur évolution. Ils se rencontrent en très grande abondance dans les vacuoles ou dans le cytoplasme de la plupart des Protistes. Dans les Cyanophycées, ils sont uniquement contenus dans le noyau et paraissent élaborés par le réseau chromatique lui-même; dans les autres Protistes, le noyau ne donne aucun signe évident de sa participation dans leur élaboration. Ces corps sont caractérisés par le fait qu'ils prennent les colorants vitaux, par leur vive affinité pour les colorants basiques, par leur métachromasie avec les teintures d'aniline bleus ou violette et avec l'hématoxyline, par leur affinité pour le rouge de ruthénium, ainsi que par la série de réactions microchimiques de A. Meyer. Ils se rencontrent dans les cellules très actives, disparaissent dans les cellules âgées, s'accumulent dans les cellules destinées à former des spores internes et sont utilisés à la formation de ces dernières. Ils se comportant donc comme des produits de réserve. Les recherches que nous avons faites dans les Ascomycètes démontrent d'une manière très précise ce rôle. Cependant, tout récemment Swellengrebel, qui a recontré des corpuscules métachromatiques dans les Trypanosomes, les considère comme les produits d'une dégénérescence nucléaire qu'il désigne sous le nom de volutinose. Cette conclusion est à rapprocher de celles de Matruchot et Molliard qui ont constaté aussi qu'une partie des corpuscules métachromatiques du *Stichococcus bacillaris* semble résulter d'une dégénérescence nucléaire. Ces observations mériteraient d'être reprises. Néanmoins il n'y aurait pas d'impossibilité a priori, à ce que les corpuscules métachromatiques puissent être dans certains cas des produits de dégénérescence. On connait en effet des substances, comme les graisses, qui peuvent être à la fois des matières de réserve et des produits de dégénérescence. C'est ainsi que dans les Champignons, il semble bien exister à la fois des graisses de réserve et des graisses de dégénérescence. Le phénomène s'expliquerait facilement d'ailleurs si l'on admet avec

Reichenow que les corpuscules métachromatiques sont comparables aux chromidies de R. Hertwig. Quoiqu'il en soit, il faut admettre que, dans le cas le plus général, les corpuscules métachromatiques sont des produits de réserve. Cette conclusion ne laisse subsister aucun doute.

Les corpuscules métachromatiques sont excessivement répandus chez les Protistes. On les a trouvé en grande abondance dans la plupart des Algues, des Champignons et des Bactéries. Ils semblent également très répandus aussi chez les Protozoaires, comme il résulte des derniers travaux de Sassi, Prowazek, Kunze, Swellengrebel, et Reichenow, mais leur étude n'y a pas encore été poussée aussi loin que chez les végétaux inférieurs. On peut même se demander si un grand nombre des chromidies décrites par R. Hertwig et ses élèves ne représenteraient pas simplement des corpuscules métachromatiques interprétés à tort ou à raison comme des produits d'expulsion nucléaire. On se rend donc facilement de l'importance capitale que les corpuscules métachromatiques doivent jouer dans la vie cellulaire des Protistes.

Ainsi, l'étude des corpuscules métachromatiques a acquis aujourd'hui une très grande précision et il n'y a qu'un point qui, malgré tout, reste encore très obscur. C'est la question de la nature chimique de ces corps. Si l'hypothèse de A. Meyer, qui les considère comme constitués d'acide nucléique, semble très vraisemblable, nous n'avons encore aucune preuve décisive en faveur de cette opinion. Il faut que espérer des recherches prochaines élucideront cette question.

Malheureusement, si les corpuscules métachromatiques sont aujourd'hui très connus, il règne une inextricable confusion dans la littérature scientifique consacrée à cette question, par suite des désignations les plus différentes qui sont données à ces corps par les différents auteurs qui les ont observés. En 1905, Fischer[1]) qui les observe dans les Cyanophycées et les prend pour des hydrates de carbone et les designe encore sous le nom nouveau de „grains d'anabénine“. Heureusement ce nom n'a pas prévalu.

Actuellement les Français, les Russes et quelques Anglais désignent ces corps sous le nom de corpuscules métachromatiques que nous avons adoptés des 1902 et dont Babès continue à faire usage.[2])
En Allemagne au contraire, on emploie uniquement le terme de volutine.

---

[1]) Fischer: Botan. Ztg., 1905.

[2]) Babès: C. R. de la Soc. de Biol., 1910.

Il est regrettable que l'on ne puisse pas s'entendre sur une désignation définitive et si nous avons écrit cette revue, c'est surtout pour essayer de résoudre cette difficulté et de donner à ces corps un nom définitif qui puisse être adopté par tous les cytologistes et afin d'éviter ainsi la grande confusion qui règne actuellement sur cette question par l'emploi de noms différents pour désigner les mêmes corps.

Nous tenons à protester contre l'emploi du nom de volutine. Ce nom est injustifié pour deux raisons. La première est que A. Meyer n'a créé ce nom qu'en 1903 dans une étude très postérieure à nos recherches commencées en 1901, alors que, pour les raisons que nous avons indiquées au début de cette revue, nous avons cru devoir conserver le nom de corpuscules métachromatiques choisi par Babès à qui l'on doit la découverte de ces corps. La seconde est que le nom de volutine est fort mal choisi, A. Meyer l'a créé parce que son élève Grimme a étudié en 1902 le caractères et l'évolution de ces corps dans le *Sp. volutans* où ils sont très nombreux. Mais A. Meyer ignorait sans doute nos recherches sur les Levûres où nous arrivions dès 1901 c'est-à-dire bien avant Grimme, à des résultats analogues et avec des faits beaucoup plus démonstratifs. Le nom de corpuscules métachromatiques doit donc, à notre avis, prévaloir sur celui de volutine, parce qu'il a la priorité et qu'il indique une les propriétés les plus caractéristiques de ces corps, il a donc une signification très précise. Le terme de volutine au contraire ne signifie rien. Les corpuscules métachromatiques sont d'ailleurs beaucoup plus nombreux dans les Levûres et les autres Champignons que dans le *Sp. volutans*. Aussi proposons-nous de supprimer définitivement le nom de grains de volutine et de conserver celui de corpuscules métachromatiques. [1])

On pourra désigner, pour plus de commodité sous le nom de métachromatine au lieu de volutine, la substance qui constitue ces corps et dont on ignore encore la nature. Ce terme de méta-

[1]) On pourrait nous objecter que le terme de corpuscules métachromatiques est un peu vague, parceque l'on connait une série de substances qui elles aussi possédent des propriétés métachromatiques analogues, telles par exemple, les amyloïdes. Mais nous ferons remarquer à ce sujet que les amyloïdes ne sont métachromatiques qu'avec le vert de méthyle et le violet de méthyle. Avec tous les autres colorants, ils n'offrent aucune métachromasie. On ne connait jusqu'ici aucune substance qui présente des propriétés métachromatiques aussi accusées que la métachromatine. Cette substance est en effet métachromatique non seulement avec toutes les teintures bleues ou violettes d'aniline, mais encore avec le vert de méthyle et l'hématoxyline.

chromatine a déjà été employé récemment par FANTHAM et PORTER ainsi que par WAGER et PENISTON.

Nous ajouterons enfin que c'est à tort que le Professeur ZACHARIAS, faisant allusion sans doute à l'expression de corpuscules métachromatiques que nous n'avons jamais cessé d'employer, nous reproche fort mal à propos, d'avoir compliqué la question des corpuscules métachromatiques en y introduisant un vocabulaire nouveau. M. ZACHARIAS [1]), qui parait ne pas connaître nos premiers travaux sur cette question, ignore sans doute que ce terme a une priorité incontestable sur celui de volutine.

[1]) ZACHARIAS: Die chemische Beschaffenheit von Protoplasma und Zellkern. Progressus rei Botanicae p. 221 1909.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdr.), Naumburg a. S.





